

50 376  
1 978  
81

N° d'ordre : 417

50376  
1978  
81

UNIVERSITÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

## THÈSE

présentée à l'Université des Sciences et Techniques de Lille

pour obtenir le grade de Docteur ès Sciences Naturelles



Émile LHEUREUX

### RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LA MORPHOGÉNÈSE RÉGÉNÉRATRICE DU MEMBRE DE PLEURODÈLE

(AMPHIBIEN URODÈLE)

Soutenue le 6 juin 1978 devant la Commission d'examen

Président M. M. DURCHON, *Professeur*

Directeur du Travail et Rapporteur M. A. BART, *Maître de Conférences*

Rapporteurs MM. P. SENDEL, *Professeur*

J. FABER, *Deputy Director*

Examineur M. V. FRENCH, *Ph. Doctor*

DOYENS HONORAIRES De L'Ancienne Faculté des Sciences

MM. R.DEFRETIN, H.LEFEBVRE, M.PARREAU.

PROFESSEURS HONORAIRES des Anciennes Facultés de Droit  
et Sciences Economiques, des Sciences et des Lettres

MM. ARNOULT, Mme BEAUJEU, BONTE, BROCHARD, CHAPPELON, CHAUDRON, CORDONNIER, CORSIN, DECUYPER, DEHEUVELS, DEHORS, DION, FAUVEL, FLEURY, P.GERMAIN, GLACET, GONTIER, HEIM DE BALSAC, HOCQUETTE, KAMPE DE FERIET, KOUGANOFF, LAMOTTE, LASSERRE, LELONG, Mme LELONG, LHOMME, LIEBAERT, MARTINOT-LAGARDE, MAZET, MICHEL, PEREZ, ROIG, ROSEAU, ROUELLE, SAVARO, SCHILTZ, WATERLOT, WIEMAN, ZAMANSKI.

PRESIDENTS HONORAIRES DE L'UNIVERSITE  
DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

MM. R.DEFRETIN, M.PARREAU.

PRESIDENT DE L'UNIVERSITE  
DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

M. M.MIGEON.

PROFESSEURS TITULAIRES

M. BACCHUS Pierre	Astronomie
M. BEAUFILS Jean-Pierre	Chimie Physique
M. BECART Maurice	Physique Atomique et Moléculaire
M. BILLARD Jean	Physique du Solide
M. BIAYS Pierre	Géographie
M. BONNEMAN Pierre	Chimie Appliquée
M. BONNOT Ernest	Biologie Végétale
M. BOUGHON Pierre	Algèbre
M. BOURIQUET Robert	Biologie Végétale
M. CELET Paul	Géologie Générale
M. COEURE Gérard	Analyse
M. CONSTANT Eugène	Electronique
M. DEBOURSE Jean-Pierre	Gestion des Entreprises
M. DELATTRE Charles	Géologie Générale
M. DELHAYE Michel	Chimie Physique
M. DERCOURT Jean	Géologie Générale
M. DURCHON Maurice	Biologie Expérimentale
M. FAURE Robert	Mécanique
M. FOURET René	Physique du Solide
M. GABILLARD Robert	Electronique
M. GRANELLE Jean-Jacques	Sciences Economiques
M. GRUSON Laurent	Algèbre
M. GUILLAUME Jean	Microbiologie
M. HECTOR Joseph	Géométrie
M. HEUBEL Joseph	Chimie Minérale
M. LABLACHE-COMBIER Alain	Chimie Organique
M. LACOSTE Louis	Biologie Végétale
M. LANSRAUX Guy	Physique Atomique et Moléculaire
M. LAVEINE Jean-Pierre	Paléontologie

M. LEBRUN André	Electronique
M. LEHMANN Daniel	Géométrie
Mme LENOBLE Jacqueline	Physique Atomique et Moléculaire
M. LHOMME Jean	Chimie
M. LINDER Robert	Biologie et Physiologie Végétale
M. LOMBARD Jacques	Sociologie
M. LOUCHEUX Claude	Chimie Physique
M. LUCQUIN Michel	Chimie Physique
M. MAILLET Pierre	Sciences Economiques
M. MONTREUIL Jean	Biochimie
M. PARREAU Michel	Analyse
M. POUZET Pierre	Analyse Numérique
M. PAQUET Jacques	Géologie Générale
M. PROUVOST Jean	Minéralogie
M. SALMER Georges	Electronique
Mme SCHWARTZ Marie-Hélène	Géométrie
M. SEGUIER Guy	Electrotechnique
M. TILLIEU Jacques	Physique Théorique
M. TRIDOT Gabriel	Chimie Appliquée
M. VIDAL Pierre	Automatique
M. VIVIER Emile	Biologie Cellulaire
M. WERTHEIMER Raymond	Physique Atomique et Moléculaire
M. ZEYTOUNIAN Radyadour	Mécanique

PROFESSEURS SANS CHAIRE

M. BELLET Jean	Physique Atomique et Moléculaire
M. BKOUCHE Rudolphe	Algèbre
M. BODARD Marcel	Biologie Végétale
M. BOILLET Pierre	Physique Atomique et Moléculaire
M. BOILLY Bénoni	Biologie Animale
M. BRIDOUX Michel	Chimie Physique
M. CAPURON Alfred	Biologie Animale
M. CORTOIS Jean	Physique Nucléaire et Corpusculaire
Mme DACHARRY Monique	Géographie
M. DEPRES Gilbert	Physique Théorique
M. DEVRAINNE Pierre	Chimie Minérale
Mme EVRARD Micheline	Chimie Appliquée
M. GOSSELIN Gabriel	Sociologie
M. GOUDMAND Pierre	Chimie Physique
M. GUILBAULT Pierre	Physiologie Animale
M. HERMAN Maurice	Physique Spatiale
M. JOURNAL Gérard	Physique Atomique et Moléculaire
Mme LEHMANN Josiane	Analyse
M. LENTACKER Firmin	Géographie
M. LEROY Jean-Marie	Chimie Appliquée
M. LEROY Yves	Electronique
M. LOUAGE Francis	Electronique
M. MAIZIERES Christian	Automatique
Mme MARQUET Simone	Probabilités
M. MESSELYN Jean	Physique Atomique et Moléculaire
M. MIGEON Michel	Chimie Physique
M. MONTEL Marc	Physique du Solide
M. MONTUELLE Bernard	Biologie Appliquée
M. NICOLE Jacques	Chimie Appliquée
M. RACZY Ladislas	Electronique
M. ROUSSEAU Jean-Paul	Physiologie Animale
M. SLIWA Henri	Chimie Organique
M. STANKIEWICZ François	Sciences Economiques
M. WATERLOT Michel	Géologie Générale

MAITRES DE CONFERENCES (et Chargés d'Enseignement)

M. AL FAKIR Sabah	Algèbre
M. ADAM Michel	Sciences Economiques
M. ANTOINE Philippe	Analyse
M. BART André	Biologie Animale
Mme BATTIAU Yvonne	Géographie
M. BEGUIN Paul	Mécanique
M. BOBE Bernard	Sciences Economiques
M. BONNELLE Jean-Pierre	Chimie
M. BOSCOQ Denis	Probabilités
M. BREZINSKI Claude	Analyse Numérique
M. BRUYELLE Pierre	Géographie
M. CARREZ Christian	Informatique
M. COQUERY Jean-Marie	Psycho-Physiologie
M. CORDONNIER Vincent	Informatique
M. COUTURIER Daniel	Chimie Organique
M. CRAMPON Norbert	Géologie
M. CROSNIER Yves	Electronique
M. DEBRABANT Pierre	Géologie Appliquée
M. DEGAUQUE Pierre	Electronique
M. DELORME Pierre	Physiologie Animale
M. DE PARIS Jean-Claude	Mathématiques
M. DHAINAUT André	Biologie Animale
M. DELAUNAY Jean-Claude	Sciences Economiques
M. DERIEUX Jean-Claude	Microbiologie
M. DOUKHAN Jean-Claude	Physique du Solide
M. DUBOIS Henri	Physique
M. DUBRULLE Alain	Physique
M. DUEE Gérard	Géologie
M. DYMENT Arthur	Mécanique
M. ESCAIG Bertrand	Physique du Solide
M. FLAMME Jean-Marie	Technologie de Construction
M. FOCT Jacques	Génie Mécanique
M. FONTAINE Hubert	Physique
M. FONTAINE Jacques	Electronique
M. FOURNET Bernard	Biochimie
M. GAMBLIN André	Géographie
M. GOBLOT Rémi	Algèbre
M. GREVET Patrick	Sciences Economiques
M. HOUDART René	Physique
M. JACOB Gérard	Informatique
M. KREMBEL Jean	Biochimie
M. LAURENT François	Automatique
Mlle LEGRAND Denise	Algèbre
Mlle LEGRAND Solange	Algèbre
M. LEVASSEUR Michel	Sciences Economiques
M. LHENAFF René	Géographie
M. LOCQUENEUX Robert	Physique Théorique
M. LOSFELD Joseph	Informatique
M. MACKE Bruno	Physique
M. MAHIEU Jean-Marie	Physique Atomique et Moléculaire
M. MALAUSSENA DE PERSO Jean-Louis	Sciences Economiques
M. MIGNOT Fulbert	Analyse Numérique
M. N'GUYEN VAN CHI Régine	Géographie
M. NOTELET Francis	Electrotechnique
M. NUSSENBAUM Maurice	Sciences Economiques
M. PARSY Fernand	Mécanique
Mlle PAUPARDIN Colette	Biologie Physiologie Végétales
M. PECQUE Marcel	Chimie Physique
M. PERROT Pierre	Chimie Appliquée

M. PERTUZON Emile	Physiologie Animale
M. PETIT Francis	Chimie Organique
M. PONSOLLE Louis	Chimie Physique
M. POVY Lucien	Automatique
M. RICHARD Alain	Biologie
M. RIETSCH François	Chimie
M. ROGALSKI Marc	Analyse
M. ROY Jean-Claude	Psycho-Physiologie
Mme SCHWARZBACH Yvette.	Mathématiques
M. SIMON Michel	Sociologie
M. SOMME Jean	Géographie
Mle SPIK Geneviève	Biochimie
M. STERBOUL François	Informatique
M. TAILLIEZ Roger	Biologie
M. THERY Pierre	Electronique
M. TOP Gérard	Sciences Economiques
M. TOULOTTE Jean-Marc	Automatique
M. TREANTON Jean-René	Sociologie
M. VANDORPE Bernard	Chimie Minérale
M. VILLETTE Michel	Mécanique
M. WALLART Francis	Chimie
M. WERNER Georges	Informatique
Mme ZIN-JUSTIN Nicole	Algèbre

SOMMAIRE

INTRODUCTION . . . . .	p. 1
MATERIEL ET METHODES . . . . .	p. 5
I - MATERIEL. . . . .	p. 5
II - METHODES. . . . .	p. 8
A - Méthodes d'élevage. . . . .	p. 8
B - Techniques opératoires. . . . .	p. 8

PREMIERE PARTIE :
PRODUCTION EXPERIMENTALE DE MEMBRES A FORMATIONS SURNUMERAIRES

p. 15

CHAPITRE I - Formations surnuméraires provoquées par transplan- tations orthotopes de blastèmes de régénération . . . . .	p. 17
A - Opérations. . . . .	p. 17
1 - Obtention de blastèmes de régénération. . . . .	p. 17
2 - Transplantations - Cas d'autogreffes. . . . .	p. 17
3 - Transplantations entre animaux diploïdes et triploïdes . . . . .	p. 19
B - Résultats . . . . .	p. 19
1 - Résultats des séries 1 à 3 . . . . .	p. 19
2 - Résultats de la série 4 . . . . .	p. 26
C - Discussion. . . . .	p. 29
1 - Développement des blastèmes greffés . . . . .	p. 29
2 - Genèse des centres morphogénétiques surnuméraires . . . . .	p. 32
CONCLUSION . . . . .	p. 44

CHAPITRE II - Morphogénèses surnuméraires provoquées par le contact de tissus différenciés de qualités opposées au niveau d'un moignon d'amputation . . . . .	p. 46
I - PRESENTATION DES EXPERIENCES . . . . .	p. 46
A - Contact de tissus de faces opposées, en un point de la périphérie du moignon d'amputation . . . . .	p. 47
1 - Orientation proximo-distale des greffons conforme à celle des membres porte-greffe : séries 5 à 10 . . . . .	p. 47

2 - Orientation proximo-distale des greffons située à 90 degrés par rapport à celle des membres porte- greffe : séries 11 à 14 . . . . .	p. 48
<b>B -</b> Contacts entre tissus de faces opposées, en deux points de la périphérie du moignon d'amputation. . . . .	p. 48
1 - Greffe de peau : séries 15 à 20 . . . . .	p. 50
2 - Greffe de derme : séries 21 et 22 . . . . .	p. 50
3 - Greffe de muscle : séries 23 et 24. . . . .	p. 50
<b>C -</b> Contacts entre tissus de faces opposées sur toute la périphérie du moignon d'amputation. . . . .	p. 52
1 - Greffe de peau : séries 25 à 28 . . . . .	p. 52
2 - Greffe de derme : série 29. . . . .	p. 52
<b>D -</b> Greffe de tissus de flanc . . . . .	p. 52
1 - Greffe de peau de flanc : série 30. . . . .	p. 52
2 - Greffe de muscle de flanc : série 31. . . . .	p. 53
<b>II - RESULTATS. . . . .</b>	<b>p. 53</b>
<b>A -</b> Contacts entre tissus de faces opposées en une zone de la périphérie du moignon d'amputation. . . . .	p. 54
1 - Membres simples . . . . .	p. 54
2 - Membres non régénérés et membres hypomorphes. . . . .	p. 54
3 - Membres à formations surnuméraires. . . . .	p. 54
<b>B -</b> Contacts entre tissus de faces opposées en deux zones de la périphérie du moignon d'amputation. . . . .	p. 61
1 - Membres régénérés des séries témoins 19 et 24 . . . . .	p. 61
2 - Membres simples . . . . .	p. 61
3 - Membres non régénérés et membres hypomorphes. . . . .	p. 61
4 - Membres à formations surnuméraires. . . . .	p. 62
<b>C -</b> Contacts entre tissus de faces opposées sur toute la périphérie du moignon d'amputation . . . . .	p. 67
1 - Membres simples . . . . .	p. 67
2 - Membres hypomorphes . . . . .	p. 67
3 - Membres à formations surnuméraires. . . . .	p. 67
<b>D -</b> Greffe de tissus de flanc . . . . .	p. 72

III - DISCUSSION . . . . .	p. 73
A - Membres à formations surnuméraires. . . . .	p. 73
1 - Etude comparée des caractéristiques des formations surnuméraires. . . . .	p. 73
2 - Genèse des formations surnuméraires . . . . .	p. 76
3 - Comparaison de nos résultats avec ceux obtenus chez d'autres espèces . . . . .	p. 78
B - Membres simples . . . . .	p. 81
C - Absence de régénération et membres hypomorphes. . . . .	p. 82
D - Hypothèse permettant d'expliquer la variabilité des résultats d'une même série d'expériences. . . . .	p. 83
CONCLUSION . . . . .	p. 85

DEUXIEME PARTIE :

ANALYSE DES MORPHOGENESES OBTENUES A PARTIR DE GREFFES DE TISSUS  
NON IRRADIES SUR DES MEMBRES IRRADIES

p. 87

1 - Un porte-greffe morphogénétiquement neutre : le moignon d'un membre irradié. . . . .	p. 87
2 - Efficacité des doses de rayons X délivrées : Absence de régénération des membres irradiés amputés. . . . .	p. 91

CHAPITRE III - Potentialités morphogénétiques des tissus du membre	p. 92
A - Potentialités morphogénétiques des tissus du membre. . . . .	p. 92
1 - Greffe de peau de bras . . . . .	p. 92
2 - Greffe de peau de flanc, série 53 . . . . .	p. 116
B - Potentialités morphogénétiques du derme et de l'épiderme . . . . .	p. 116
C - Potentialités morphogénétiques du tissu musculaire. . . . .	p. 120
D - Potentialités morphogénétiques des tissus squelettiques . . . . .	p. 124
E - Régénération après greffe de deux types de tissu non irradié sur un membre irradié amputé. . . . .	p. 129

F - Discussion. . . . .	p. 130
1 - Nature des tissus greffés . . . . .	p. 130
2 - Associations de tissus de qualités différentes. . . . .	p. 130
3 - Influence de la rotation de 90 degrés de l'axe proximo-distal de la peau sur la régénération . . . . .	p. 133
CONCLUSION . . . . .	p. 136
CHAPITRE IV - Origine des tissus des néoformations induites par la greffe de tissus non irradiés sur le moignon d'un membre irradié. . . . .	p. 137
A - Origine de l'épiderme des membres irradiés régénérés . . . . .	p. 139
1 - Expériences . . . . .	p. 139
2 - Résultats . . . . .	p. 140
3 - Discussion. . . . .	p. 144
B - Destinée des tissus greffés sur le moignon des membres irradiés. . . . .	p. 150
1 - Expériences . . . . .	p. 150
2 - Résultats . . . . .	p. 150
3 - Discussion. . . . .	p. 153
CONCLUSION . . . . .	p. 156

TROISIEME PARTIE :

CONTROLE PROXIMO-DISTAL DE LA REGENERATION	p. 158
--	--------

CHAPITRE V - Interactions entre blastèmes de régénération et moignons d'amputation de niveaux proximo- distaux différents dans le développement proximo- distal du membre en régénération. . . . .	p. 158
A - Développement proximo-distal du membre après la greffe de blastèmes sur des moignons situés en position proximale ou distale par rapport au niveau d'origine des blastèmes . . . . .	p. 159
1 - Expériences . . . . .	p. 159
2 - Résultats . . . . .	p. 160
3 - Discussion. . . . .	p. 162

B - Développement proximo-distal et morphogenèses surnuméraires après greffes hétéropleurales de blastèmes sur des moignons d'amputation proximale ou distalement par rapport à leur niveau d'origine . . . . .	p. 164
1 - Expériences . . . . .	p. 164
2 - Résultats . . . . .	p. 167
3 - Discussion. . . . .	p. 170
CONCLUSION . . . . .	p. 171
CHAPITRE VI - Contrôle exercé par les tissus du moignon d'amputation dans la régulation proximo-distale de la régénération du membre . . . . .	p. 172
A - Influences relatives de la peau et des tissus axiaux dans l'organisation proximo-distale du membre en régénération. . . . .	p. 172
1 - Greffe de peau non irradiée sur un moignon de membre non irradié . . . . .	p. 173
2 - Greffe de peau non irradiée sur le moignon d'un membre irradié . . . . .	p. 176
B - Régénération de membres surnuméraires par contact entre les tissus de faces opposées appartenant à des niveaux proximo-distaux différents. . . . .	p. 178
1 - Expériences . . . . .	p. 178
2 - Résultats . . . . .	p. 179
3 - Discussion. . . . .	p. 182
CONCLUSION . . . . .	p. 182
CONCLUSION DE LA TROISIEME PARTIE . . . . .	p. 183

QUATRIEME PARTIE :

ROLES RESPECTIFS DES NERFS ET DES CONTACTS TISSULAIRES  
DANS LA GENESE DES MEMBRES SURNUMÉRAIRES

p. 186

CHAPITRE VII - Rôle des nerfs dans la fréquence d'obtention

des formations surnuméraires. . . . . p. 186

A - Répartition des principaux nerfs du membre

de Pleurodèle . . . . . p. 186

B - Formations surnuméraires dorsales après

augmentation de l'innervation . . . . . p. 187

1 - Opérations. . . . . p. 187

2 - Résultats . . . . . p. 188

3 - Discussion. . . . . p. 190

CONCLUSION . . . . . p. 190

CHAPITRE VIII - Développement de membres surnuméraires induits

par déviation du nerf brachial . . . . . p. 191

A - Techniques opératoires. . . . . p. 191

B - Expériences . . . . . p. 192

C - Résultats . . . . . p. 195

1 - Degré de développement. . . . . p. 195

2 - Orientation des membres néoformés . . . . . p. 198

D - Discussion . . . . . p. 200

1 - Efficacité de l'innervation dans le  
déclenchement de morphogenèse . . . . . p. 200

2 - Importance de l'origine des tissus présents  
au niveau de l'émergence du nerf dévié. . . . . p. 201

3 - Rôles respectifs des contacts entre tissus de  
faces opposées et de la stimulation nerveuse. . . . . p. 206

4 - Développement proximo-distal des néoformations. . . . . p. 206

CONCLUSION . . . . . p. 207

CONCLUSION GENERALE. . . . .	p. 209
A - Conditions indispensables à l'initiation de morphogenèse . . . . .	p. 209
1 - Traumatisme . . . . .	p. 209
2 - Présence des nerfs. . . . .	p. 209
3 - Epiderme. . . . .	p. 209
B - Conditions de développement de morphogenèse . . . . .	p. 210
1 - Néoformations développées sur le moignon d'un membre irradié . . . . .	p. 210
2 - Formations surnuméraires. . . . .	p. 211
3 - Discussion. . . . .	p. 211
C - Contrôle du développement proximo-distal. . . . .	p. 213

BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION

## AVANT-PROPOS

Avant de commencer l'exposé de ce travail je voudrais adresser mes plus sincères remerciements à mes maîtres, Messieurs les Professeurs DURCHON et BART.

Monsieur DURCHON, Directeur du Laboratoire de Biologie animale, m'a initié à la Recherche et, par son exemple et ses encouragements, m'a engagé dans la voie de la Biologie expérimentale, parfois délicate mais combien passionnante. Par sa haute autorité, par sa présence, par l'ambiance de recherche qu'il a créée, Monsieur DURCHON, fut pour moi un exemple et un précieux guide. Qu'il me permette de lui témoigner ma respectueuse reconnaissance.

Monsieur BART m'a accueilli, dans le laboratoire de Morphogénèse qu'il créa il y a quelques années. Sa constante disponibilité, l'excellent accueil qu'il m'a toujours réservé, sa haute compétence et sa rectitude scientifiques m'ont été de grand prix. Je tiens à l'assurer de ma plus sincère gratitude.

Monsieur SENDEL, Professeur à l'Université de Grenoble m'a fait l'honneur d'accepter de juger ce travail. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de ma respectueuse considération.

Je tiens également à remercier Monsieur FABER, Professeur à l'Université d'Utrecht de l'intérêt qu'il a porté à mon travail et de l'honneur qu'il me fait en acceptant de le juger.

Monsieur FRENCH, Ph. D., de l'Université d'Edinbourg s'est toujours intéressé à mes recherches et je lui suis gré de faire partie de mon jury.

Que Madame BONET, pour la traduction des textes de langue russe et la dactylographie de ce mémoire, Monsieur HIMPENS pour sa participation à la réalisation des dessins, Madame AUGER et Monsieur LAZARECKI pour l'ensemble des reproductions photographiques acceptent mes sincères remerciements.

Chez les Urodèles, l'étude de la morphogenèse du membre peut être abordée par la voie de l'embryologie ou celle de la régénération. Dans ce dernier cas, les différentes étapes (THORNTON, 1968) peuvent être regroupées en deux phases successives dont la première est la phase de régression, consécutive à l'amputation, pendant laquelle s'opère la phagocytose des cellules lésées et la dédifférenciation des tissus du moignon d'amputation. Au cours de la deuxième phase, ou phase de progression, le blastème de régénération va se constituer et proliférer, puis le membre prend forme. Cette étape correspond à la morphogenèse. La différenciation cellulaire au cours de la morphogenèse se manifeste au cours de l'histogenèse.

Les problèmes que pose l'étude de la régénération du membre varient au cours de ces étapes successives de la régénération. Les phases initiales de la régénération des membres d'Urodèles sont surtout liées au traumatisme causé par l'amputation. Les blessures induisent la dédifférenciation des tissus (THORNTON, 1953 ; TASSAVA et MESCHER, 1975) tandis que l'initiation de la synthèse d'ADN s'opère quelques jours après l'amputation (JEANNY et GONTCHAROFF, 1974 ; TASSAVA *et al.*, 1975). Les phases de division proprement dites nécessitent la présence des nerfs (KELLY et TASSAVA, 1973). Le rôle trophique de ces derniers dans la régénération des membres de Vertébrés, étudié par SINGER (1974) se traduit par la nécessité d'une quantité minimum de fibres nerveuses au niveau du moignon d'amputation pour qu'il se régénère. Enfin l'épiderme cicatriciel empêche la redifférenciation des cellules dédifférenciées, et permet la poursuite des divisions cellulaires (TASSAVA et LOYD, 1977).

Un autre sujet intéressant est celui de la genèse du centre morphogénétique régénérateur. L'objet de notre étude est surtout celui de la mise en place d'un tel centre. C'est aussi la recherche de l'origine des cellules qui constituent ce centre, recherche qui doit contribuer à mieux connaître le contrôle exercé par le moignon d'amputation sur la régénération du membre.

Les premières expériences que nous avons effectuées sur le membre de triton en régénération datent de 1970. Etant donné qu'à cette époque, peu de travaux étaient consacrés à l'étude des mécanismes de mise en place d'un centre morphogénétique régénérateur chez les Amphibiens, nous nous sommes engagés dans cette direction de recherche.

Nous avons abordé cette étude sur le triton *Pleurodeles waltlii* Michah. par la production expérimentale de membres surnuméraires qui a permis chez les Arthropodes d'analyser les facteurs responsables de l'établissement d'un centre morphogénétique (BART, 1965, 1969, 1971 ; BOHN, 1965, 1972 ; BULLIERE, 1970).

Avant de présenter les différentes parties de ce travail, nous allons exposer succinctement les principales étapes de l'évolution des idées relatives à la genèse des membres surnuméraires.

Les grandes étapes de l'évolution des idées relatives à la genèse des membres surnuméraires

La procédure expérimentale à l'origine de l'obtention de membres surnuméraires étant très souvent une transplantation d'extrémités de membres ou d'appendices en croissance ou en régénération, associée à une inversion d'axes transverses, HARRISON (1921) opérant sur des bourgeons de membre d'Amphibien a émis l'idée que les duplications ou triplifications pouvaient être liées à l'opposition de polarité des axes transverses du greffon et de la base d'implantation. Cette idée est partagée par SWETT (1926) et ABELOOS et LECAMP (1931). Cette conception n'explique pas l'origine de chacun des éléments du membre multiple obtenu.

Pour PRZIBRAM (1921), l'apparition de ces productions surnuméraires s'explique de la même manière que celles formées après traumatismes des membres adultes. Chez les Amphibiens, DELLA VALLE (1913) sectionne partiellement le bras de *Triturus cristatus*. Il empêche, à l'aide d'une ligature, la suture des deux lèvres de la plaie de s'opérer, l'épiderme cicatriciel recouvrant alors chacune d'elle ; puis le membre est amputé distalement par rapport à l'hémisection, à peu près au niveau du coude. Ce moignon distal régénère la partie amputée tandis qu'à partir des deux lèvres de l'hémisection se développent deux membres surnuméraires, l'un en direction distale et l'autre en direction proximale. Appliquant ce résultat au cas des transplantations, PRZIBRAM suppose qu'un composant du membre triple pouvant se former à partir de telles expériences, provient de la croissance normale du greffon, qu'un autre provient de la régénération normale de la base d'implantation et qu'un troisième composant se développe sous forme d'une régénération proximale du greffon. Cette hypothèse a l'avantage d'expliquer la genèse des centres morphogénétiques surnuméraires en faisant correspondre chaque centre à un centre de régénération. Encore faut-il expliquer la régénération d'un membre amputé. BODENSTEIN (1937) et BULLIERE (1970) ont appliqué cette hypothèse à la genèse des formations surnuméraires obtenues par eux chez le papillon *Pyrausta californica* et la blatte *Blattella germanica*.

BART (1965) émet l'hypothèse que le développement des appendices surnuméraires chez l'insecte *Carausius morosus* est le résultat du contact

de tissus de qualités opposées. La morphogenèse, résultat d'un tel contact, "agirait en quelque sorte pour séparer de nouveau les faces opposées l'une de l'autre" (BART, 1969).

Une telle hypothèse explique également de façon simple toute régénération d'appendice par association de tissus de faces opposées lors de la cicatrisation du moignon d'amputation. L'auteur base son argumentation sur les relations de symétrie entre l'appendice porte-greffe, le greffon et les appendices surnuméraires, mais la meilleure démonstration d'une participation conjointe des tissus de qualités opposées mis en contact, à la formation d'un appendice surnuméraire est fournie par l'obtention d'appendices chimères à partir d'appendices différents (BART, 1969) ou à partir d'appendices d'espèces différentes (BOHN, 1972). Toutefois de tels appendices chimères n'ont pas été observés chez *Pyrameis californica* (BODENSTEIN, 1937), *Blabera craniifer* (BULLIERE, 1970) ou l'araignée *Tegenaria saeva* (LHEUREUX, 1971) chez lesquels l'un des appendices surnuméraires est de même nature que le greffon et l'autre de même nature que la porte-greffe. BOHN (1972) admet que les tissus participant à la constitution d'un appendice peuvent provenir du greffon, du porte-greffe ou des deux à la fois (chimères) sans devoir faire appel à des phénomènes différents pour expliquer la formation d'un centre morphogénétique surnuméraire.

En 1969, WOLPERT introduit la notion de valeurs de position que FRENCH *et al.* (1976) utilisent pour élaborer un modèle explicatif de la genèse d'un centre morphogénétique surnuméraire. Les auteurs affectent à la périphérie de l'appendice d'Arthropode et du membre de Vertébré des valeurs de position chiffrées de 1 à 12, les valeurs 12, 9, 6 et 3 correspondant aux qualités dorsale, antérieure, ventrale et postérieure. Ils admettent que la constitution d'un centre morphogénétique surnuméraire n'a lieu que lorsque les tissus affectés de deux valeurs de position différant par 6 unités entrent en contact, par exemple les valeurs 3 et 9. Ce modèle ne modifie en rien la conception de l'origine des centres morphogénétiques surnuméraires proposée par BART.

Enfin, une autre conception de la genèse de centres morphogénétiques a été dégagée des études expérimentales effectuées sur les membres embryonnaires d'Oiseau et de Batracien. SAUNDERS et GASSELING (1968) constatent qu'une zone postérieure au bourgeon d'aile peut, lorsqu'elle est transportée sur le bord antérieur de ce bourgeon, provoquer le développement d'une aile surnuméraire. Ils admettent l'existence d'une substance dont la diffusion, à partir du bord postérieur du bourgeon de membre, assure la mise en place de l'axe *a-p* du membre de Poulet comme celui d'un membre surnuméraire qu'elle peut engendrer. Cette hypothèse a été développée chez l'embryon de Poulet (MAC CABE *et al.*, 1973 ; TICKLE *et al.*, 1975) et chez l'embryon d'Axolotl (SLACK, 1977).

Dans la première partie de notre étude nous examinerons le déterminisme d'apparition d'un membre surnuméraire. Dans la seconde partie nous chercherons à préciser quels sont les tissus du moignon qui peuvent participer à la création d'un centre morphogénétique. Une troisième partie sera consacrée au contrôle du développement proximo-distal du membre en régénération. La quatrième partie précisera le rôle des nerfs dans la genèse des membres surnuméraires.

MATERIEL ET METHODES

## I - MATÉRIEL

L'étude expérimentale est réalisée sur les larves du triton *Pleurodeles waltlii* Michah.

Les pontes, possibles de septembre à avril, sont obtenues dans les 48 heures qui suivent l'accouplement des adultes. L'éclosion a lieu deux semaines plus tard et les larves atteignent en deux mois et demi, la taille de 5 à 6 cm qui permet d'effectuer les opérations.

L'élevage est aisé et la régénération des membres a lieu aussi bien au cours de la vie larvaire qu'après le passage à l'état adulte.

### LE MEMBRE DE PLEURODELE

#### 1 - Structure d'ensemble

Le membre antérieur se compose classiquement de trois parties, le stylopode ou bras, le zeugopode ou avant-bras et l'autopode ou main. Il est soutenu par un squelette (Fig. 1) décrit au siècle dernier par WIEDERSHEIM (1880). Au stylopode correspond l'humérus et au zeugopode le radius et le cubitus (= ulna). L'autopode se subdivise en plusieurs zones : le basipode, le métapode et l'acropode. Au niveau du basipode se placent les os du carpe, le radial, le cubital (= ulnaire) partiellement soudé à l'intermédiaire, le central et quatre carpiens. Le squelette du métapode correspond aux quatre métacarpiens et celui de l'acropode aux phalanges. Chaque doigt comporte deux phalanges à l'exception du troisième doigt qui en montre trois.

#### 2 - Eléments de polarité

Les éléments de polarité du membre sont au nombre de trois :

- l'axe longitudinal ou proximo-distal (*pr-di*) ;
- le plan transverse antéro-postérieur (*a-p*) ou radio-ulnaire qui correspond au plan de la main, le premier doigt, le radius et la crête deltoïde de l'humérus étant antérieurs ;
- le plan transverse dorso-ventral (*d-v*), perpendiculaire au précédent, la face ventrale étant matérialisée par la paume de la main.

#### 3 - Position des tissus

Trois tissus principaux s'observent au niveau d'un plan de section de membre (Fig. 2) : la peau dont on sépare aisément l'épiderme du derme, les muscles et le squelette. Les principaux muscles du bras sont le muscle *anconeus* dorsal et le muscle *humero antibrachialis* antéro-ventral. La diaphyse de l'humérus est ossifiée mais dans le membre régénéré, elle est constituée

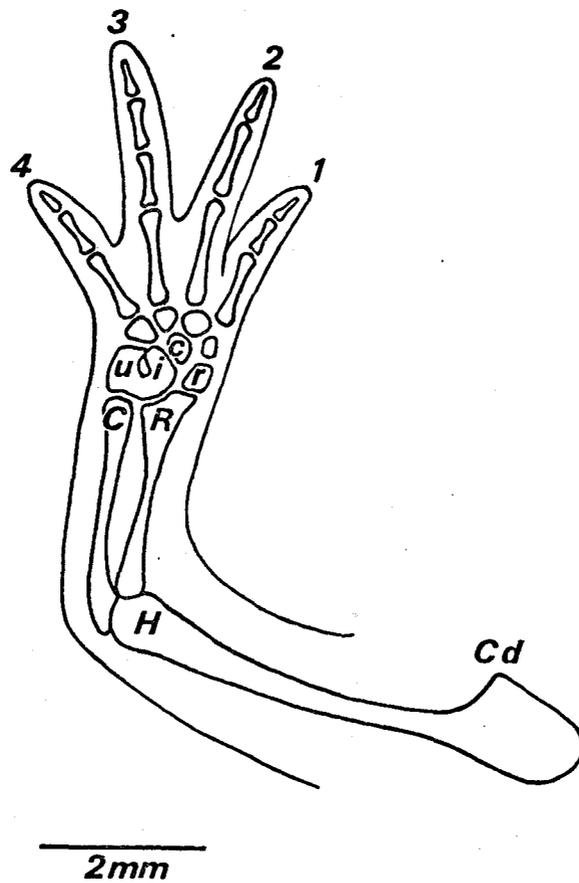


Fig. 1 - Squelette du membre antérieur gauche de *Pleurodeles* en vue dorsale.

c : central ; C : cubitus ou ulna ; c.d. : crête deltoïde ;  
H : humérus ; i : intermédiaire ; r : radial ; R : radius ;  
u : ulnaire ou cubital.  
1 à 4 : numérotation des doigts du bord antérieur au bord  
postérieur.

de cartilage enveloppé d'une gaine conjonctive. Les principaux nerfs du bras sont le nerf brachial situé en position ventrale et composé de deux branches et les nerfs extenseurs. Les noms des muscles et des nerfs sont empruntés à ceux du membre de Salamandre étudié par FRANCIS (1934).

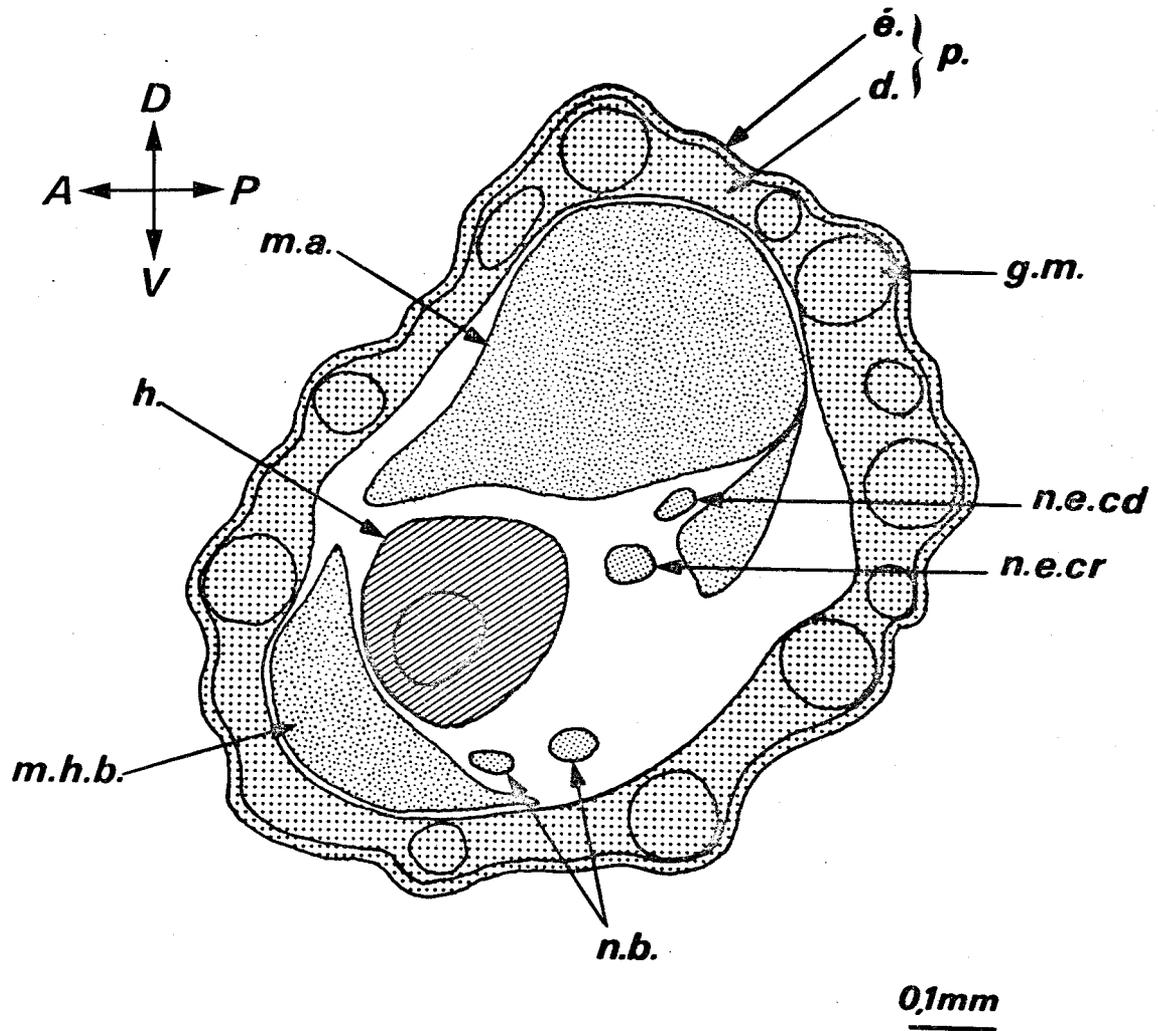


Fig. 2 - Coupe transversale de bras de Pleurodèle.

- d. : derme ;
- é. : épiderme ;
- g.m. : glande muqueuse ;
- h. : humérus ;
- m.a. : muscle *anconeus* ;
- m.h.b. : muscle *humero-brachialis* ;
- n.b. : nerf brachial (deux branches) ;
- n.e.cd. : nerf extenseur caudal ;
- n.e.cr. : nerf extenseur cranial ;
- p. : peau.

## II - MÉTHODES

### A - METHODES D'ELEVAGE

Une semaine après l'éclosion, chaque larve est isolée dans un cristalliseur, en eau courante. Pendant un mois, la nourriture consiste en larves d'*Artemia salina* obtenues au laboratoire à partir d'oeufs conditionnés (Blaupunkt-Artemia Melle). Dès que la taille des larves de Pleurodèle le permet, il leur est fourni des larves de chironomes trois fois par semaine. L'eau d'élevage est renouvelée une fois par semaine.

### B - TECHNIQUES OPERATOIRES

#### 1 - Anesthésie

Les animaux sont plongés dans une solution aqueuse de MS 222 (Sandoz-Bâle) à 1 pour 1000. L'anesthésie survient 2 à 3 minutes plus tard. Elle est maintenue au cours des opérations par l'utilisation d'une solution opératoire aqueuse de MS 222 à 1 pour 10 000.

#### 2 - Opérations

Les opérations sont réalisées sous observation à la loupe binoculaire à des grossissements de 10 à 16 fois, à l'aide de brucelles et de ciseaux de Pascheff-Wolff.

Les greffes de blastèmes de régénération sont effectuées sur des moignons d'amputation et le maintien des greffons est assuré à l'aide de deux agrafes en fil d'argent. Celles-ci sont ôtées deux jours plus tard.

Les opérations de greffes de tissus sont réalisées sur le bras ou l'avant-bras. L'amputation est faite le lendemain ou le surlendemain et intéresse les tissus greffés. La peau est greffée en remplacement de celle du membre receveur. Elle correspond à un secteur ou un manchon maintenu pendant 24 heures par une ligature à l'aide d'un fil de nylon. Les implantations des autres tissus sont réalisées sous la peau du membre.

Les procédés propres à certaines séries seront précisés ultérieurement.

Afin d'éviter dans la mesure du possible le rejet des tissus greffés par ceux du receveur, on réalise des autogreffes. Les homogreffes sont exceptionnelles sauf entre individus diploïdes et triploïdes.

### 3 - Coloration in toto des squelettes

Quand la morphogenèse régénératrice est achevée, le membre est désarticulé au niveau de l'épaule, débarrassé de sa peau et de la plupart des muscles. Après fixation pendant 24 heures dans le formol à 5 % et lavage à l'eau courante, également pendant 24 heures, la dépigmentation est faite dans de l'eau oxygénée à 20 volumes pendant 2 à 3 semaines. La coloration *in toto* du squelette par le vert de méthyle, selon la technique de LUNDWALL exposée par GABE (1968), a lieu à 37°C pendant 3 jours. Après déshydratation, les pièces sont conservées dans un mélange de salicylate de méthyle (75 %) et de benzoate de benzyle (25 %) qui assure également l'éclaircissement des tissus mous.

### 4 - Isolement des différents tissus

#### Peau

La peau est isolée à l'aide de ciseaux et de pinces des tissus sous-cutanés. Le fragment de peau est greffé à la place de territoire de peau du membre receveur.

#### Derme et épiderme

Ces deux éléments tissulaires sont aisément séparés après action de l'EDTA (sel de sodium de l'acide éthylène diamine tétraacétique) à 1 pour 1000 en solution dans le liquide de Steinberg sans calcium ni magnésium à 30°C pendant 30 minutes. Les greffes de derme sont aussi facilement réalisées que les greffes de peau. Par contre toute tentative de greffe d'épiderme s'est soldée par un échec, qu'il ait été isolé du derme par l'action de l'EDTA ou par l'action de la trypsine à 1 % en solution dans ce même liquide de Steinberg à la température de 30°C pendant 30 minutes.

#### Muscle

Le muscle est greffé sous la forme d'un fragment correspondant au quart du muscle *anconeus* ou à l'ensemble du muscle humérobrachial ou encore à un fragment de même taille prélevé dans les somites. Les greffons sont insérés sous la peau du membre receveur.

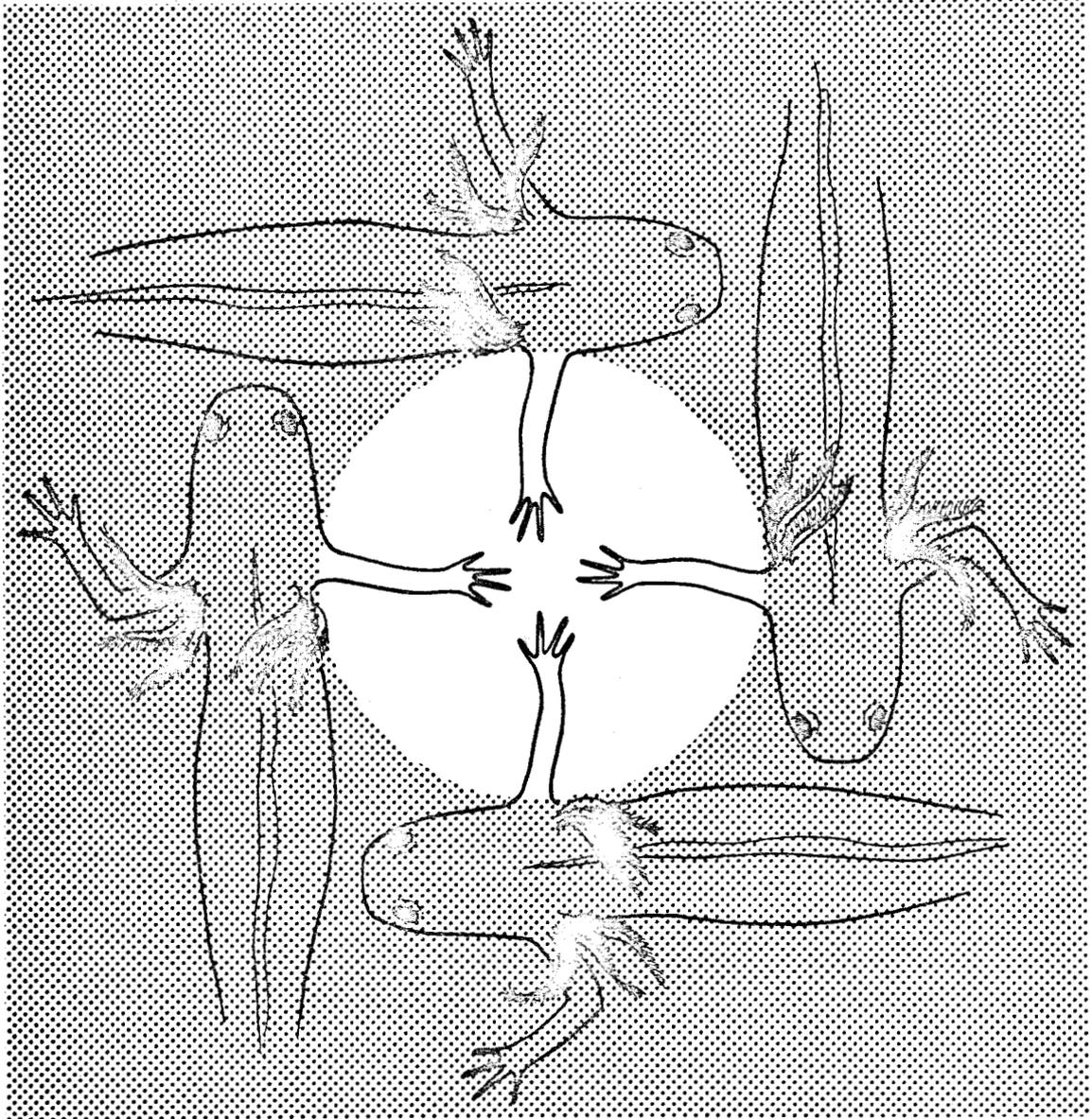
#### Tissus squelettiques

Débarrassé soigneusement des fibres conjonctives et musculaires qui s'y attachent, l'os ou un fragment est greffé le plus souvent sous la peau ; le squelette du membre receveur reste ou non en place selon les expériences.

Parfois le cartilage seul est transplanté. Dans ce cas, il est isolé de la diaphyse d'un humérus régénéré de grosse taille et dont le périoste conjonctivo-osseux est aisément ôté.

### 5 - Utilisation des rayons X

La partie du corps qui doit être irradiée est exposée à un flux de rayons X provenant d'un appareil "Transfoleix 90.20 Massiot", le reste du corps est protégé par une feuille de plomb de 3 mm d'épaisseur (Fig. 3). Les caractéristiques de l'irradiation sont les suivantes :



BUS  
LILLE

Fig. 3 - Disposition des animaux dont le membre droit est exposé à l'irradiation X. Une feuille de plomb de 3 mm d'épaisseur est percée selon un cercle au niveau duquel le membre droit est entièrement soumis aux rayons X.

80 kV ; 2,5 mA ; distance entre la source et le membre : 5,5 cm ; absence de filtre. Les débits ont été mesurés avec un microdosimètre de protection Massiot Philips. A 5,5 cm de la source, la dose est de l'ordre de 160 r (rads) par minute. Une dose de 2 000 r est délivrée par une irradiation de 12 minutes 30 secondes. Certains membres ont été soumis à une dose de 5 000 r.

#### 6 - Obtention d'animaux triploïdes

Afin de suivre la destinée des tissus greffés dans la régénération du membre, des greffons provenant d'animaux triploïdes sont transplantés au niveau du moignon d'amputation de membres d'animaux diploïdes.

Dans les 10 minutes qui suivent la ponte, les oeufs sont plongés dans de la glace fondante. Ils y demeurent 10 heures, après quoi ils sont replacés dans de l'eau à la température du laboratoire. De telles conditions ont permis à BEETSCHEN (1960) d'obtenir des larves triploïdes viables dans la proportion de 85 %. Des analyses caryogamiques ont confirmé l'obtention de larves dont les noyaux bloqués en métaphase contiennent 36 chromosomes alors que les noyaux cellulaires des animaux diploïdes en comptent 24.

Tous les animaux obtenus par ce traitement sont numérotés et leur ploïdie est déterminée ultérieurement en comparant la quantité d'ADN des noyaux de leurs cellules sanguines à celle de cellules sanguines d'animaux témoins diploïdes.

#### 7 - Cytophotométrie

Nous avons analysé la ploïdie des noyaux cellulaires des tissus régénérés afin de déterminer la participation relative des tissus diploïdes et triploïdes mis en présence au niveau d'un centre de morphogenèse. Cette analyse est faite en comparant la quantité d'ADN mesurée par cytophotométrie, des noyaux des tissus régénérés à celle des tissus correspondants de témoins diploïdes.

##### a) Techniques de dissociation des différents tissus

###### - Cellules sanguines

L'étalement des érythrocytes se fait par la technique classique des frottis sanguins.

###### - Epiderme

L'épiderme après séparation du derme n'est soumis à aucun autre traitement préalable à la fixation.

###### - Derme et cartilage

Le derme isolé de l'épiderme ou le cartilage, sont coupés en petits fragments puis maintenus pendant 45 minutes dans une solution à 1 % de trypsine dans le liquide de Steinberg dépourvu d'ions  $Ca^{++}$  et  $Mg^{++}$ , à la température de 30°C. Tous les fragments demeurent compacts et peuvent être facilement manipulés.

- Muscle

Le muscle fractionné est soumis à une glycérination à 4°C pendant une nuit afin de faciliter la dissociation des fibres par dilacération à l'aide d'aiguilles et de pinces.

b) Fixation et coloration

Tous les tissus sont fixés au Carnoy pendant 15 minutes. Pour le muscle ce traitement s'ajoute à la glycérination. Deux fragments tissulaires sont ensuite déposés sur une lame porte objet dans une goutte d'acide acétique à 45 % dans l'eau. L'un est un fragment témoin diploïde et l'autre le fragment à analyser. La lame est légèrement chauffée sur une platine ce qui facilite la dissociation. Une deuxième lame est déposée sur la préparation et une pression est exercée à l'aide du pouce afin d'écraser le tissu et d'obtenir une bonne séparation des cellules. L'ensemble des deux lames est porté à une température de -70°C pendant 10 minutes, après quoi les deux lames sont séparées mécaniquement à l'aide d'une lame de rasoir. La préparation demeure sur l'une des lames. Après un passage dans l'alcool à 96 degrés, la préparation est collodionnée et hydratée. Les lames sont disposées dans un bac à coloration et soumises à l'hydrolyse à chaud dans de l'acide chlorhydrique normal à 60°C pendant 7 minutes. La coloration de l'ADN est faite par la réaction de Feulgen-Rosenbeck selon la méthode de Graumann décrite par GABE (1968). Par cette technique l'intensité de coloration des noyaux cellulaires d'une même préparation est directement proportionnelle à la quantité d'ADN qu'ils contiennent.

c) Cytophotométrie

Les mesures sont effectuées sur un microphotomètre LEITZ MPV 1 par la méthode des deux longueurs d'onde (PATAU, 1952). On recherche  $\lambda_1$  pour laquelle la transmission  $T_1$  à travers le noyau coloré par la réaction de Feulgen est minimale. Puis on recherche  $\lambda_2$  pour laquelle la transmission  $T_2 = \sqrt{T_1}$ . Les valeurs déterminées de  $\lambda_1$  et  $\lambda_2$  sont respectivement de 570 nm et 498 nm. La quantité d'ADN des noyaux est déterminée par les tables de MENDELSON (1958). Elle est exprimée en unités arbitraires.

Toutes les préparations hydrolysées et colorées dans un même bac de coloration constituent un ensemble de données comparables. Pour comparer les données obtenues à partir de deux colorations menées séparément en considérant comme étant équivalentes les valeurs trouvées pour les témoins diploïdes de chaque série, on détermine un coefficient correcteur qui est appliqué à toutes les mesures.

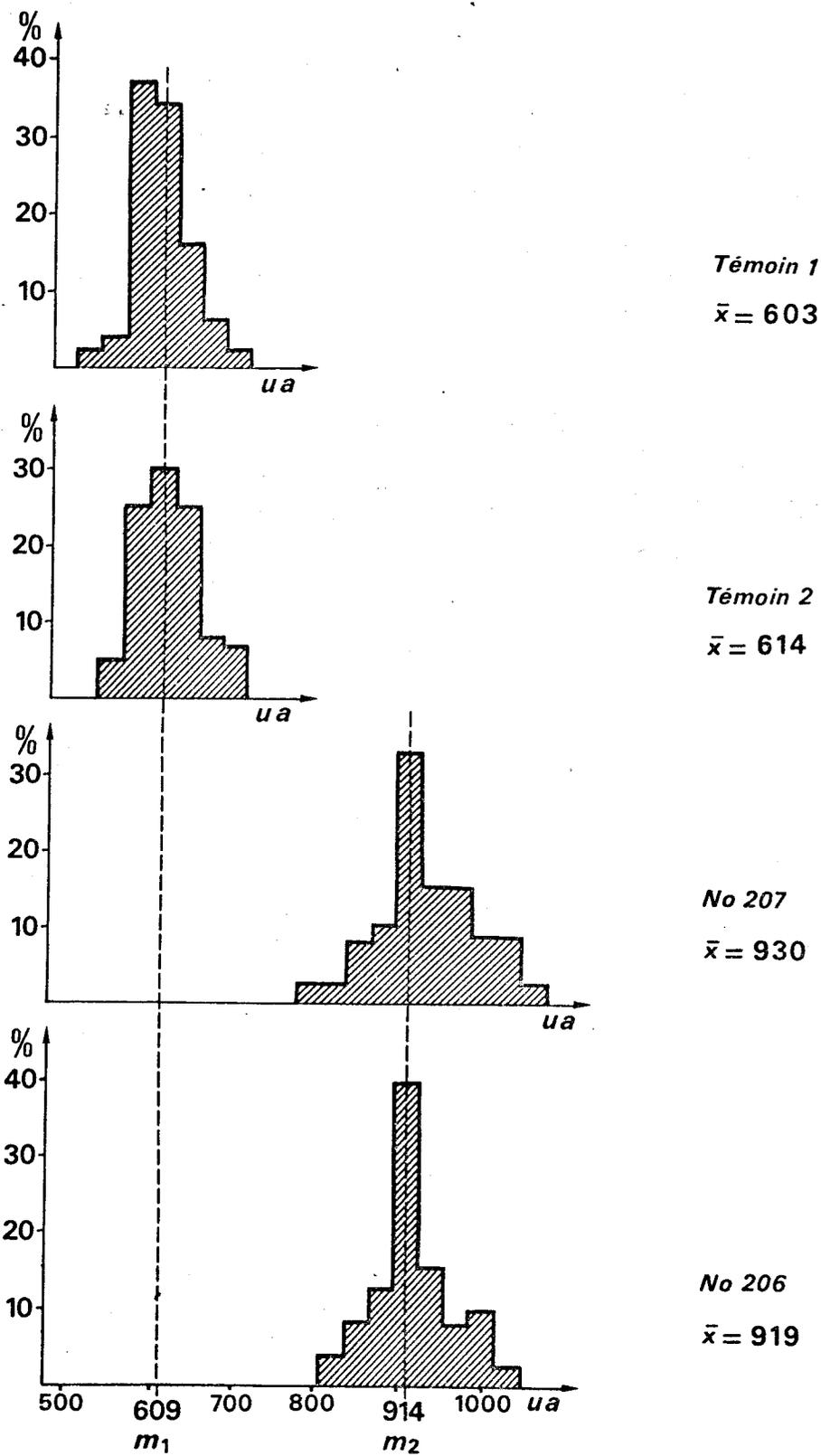


Fig. 4 - Quantité relative d'ADN des cellules sanguines d'animaux diploïdes témoins ( $t_1$  et  $t_2$ ) et d'animaux triploïdes (207 et 206).  
Abscisse : pourcentage de noyaux.  
Ordonnées : Quantité d'ADN en unités arbitraires.



#### d) Grandeurs des échantillons

Par l'étude des populations de cellules sanguines, nous avons précisé quelle devait être la grandeur minimale des échantillons permettant une comparaison correcte de la ploïdie des tissus régénérés et de celle des tissus témoins. A partir des échantillons progressivement croissants composés de 10, 20, 30... 120 noyaux, on détermine la moyenne et l'écart-type des teneurs en ADN pour différents animaux diploïdes. Entre ces animaux, ces données sont ensuite comparées pour des échantillons de même grandeur. Bien souvent les moyennes des populations de noyaux diploïdes ne diffèrent plus de façon significative pour des échantillons de 10 ou 20 noyaux. Parfois 30, 40 et même 50 noyaux sont nécessaires pour montrer que ces populations sont équivalentes.

On peut aussi comparer les cellules sanguines d'un animal diploïde et celles d'un animal présumé triploïde.

Si le rapport de la moyenne de l'échantillon diploïde à celle de l'échantillon présumé triploïde est environ égal à 0,66, on considère l'animal triploïde. Sa moyenne et son écart-type, affectés du coefficient 0,666 sont alors comparés à la moyenne et à l'écart-type de l'animal diploïde pour chacun des échantillons de 10 à 120 noyaux cellulaires. Le plus souvent 30 à 50 cellules constituent des échantillons suffisants pour que les moyennes ne diffèrent plus de façon significative. Le rapport de la moyenne des quantités d'ADN des noyaux triploïdes, à celle des noyaux diploïdes varie de 1,47 à 1,53. Dans certains cas cette moyenne varie de 1,40 à 1,43. Alors la différence entre la moyenne d'un échantillon de 120 cellules diploïdes et celle de 120 cellules présumées triploïdes, affectée du coefficient 0,666 demeure significative. Certains animaux semblent donc hypotriploïdes. Cette conclusion est en accord avec l'existence de caryotypes à 34 ou 35 chromosomes observés par BEETSCHEN (1960).

Dans la pratique nous avons utilisé des échantillons de 50 noyaux. Toutefois la moyenne de référence est établie à partir de 100 noyaux appartenant à deux populations de cellules témoins diploïdes. Les populations de cellules sanguines sont présentées sous forme d'histogrammes de fréquence (Fig. 4). Il en sera de même pour les cellules des tissus des régénérats. Sur ces histogrammes est indiquée la moyenne  $m_1$  des quantités d'ADN des cellules diploïdes, ainsi que la moyenne calculée  $m_2$  ( $m_2 = 1,5 m_1$ ) devant correspondre aux quantités d'ADN des cellules triploïdes. Cette présentation permet de voir si les populations de noyaux cellulaires correspondent à des courbes unimodales ou bimodales, diploïdes ou triploïdes.

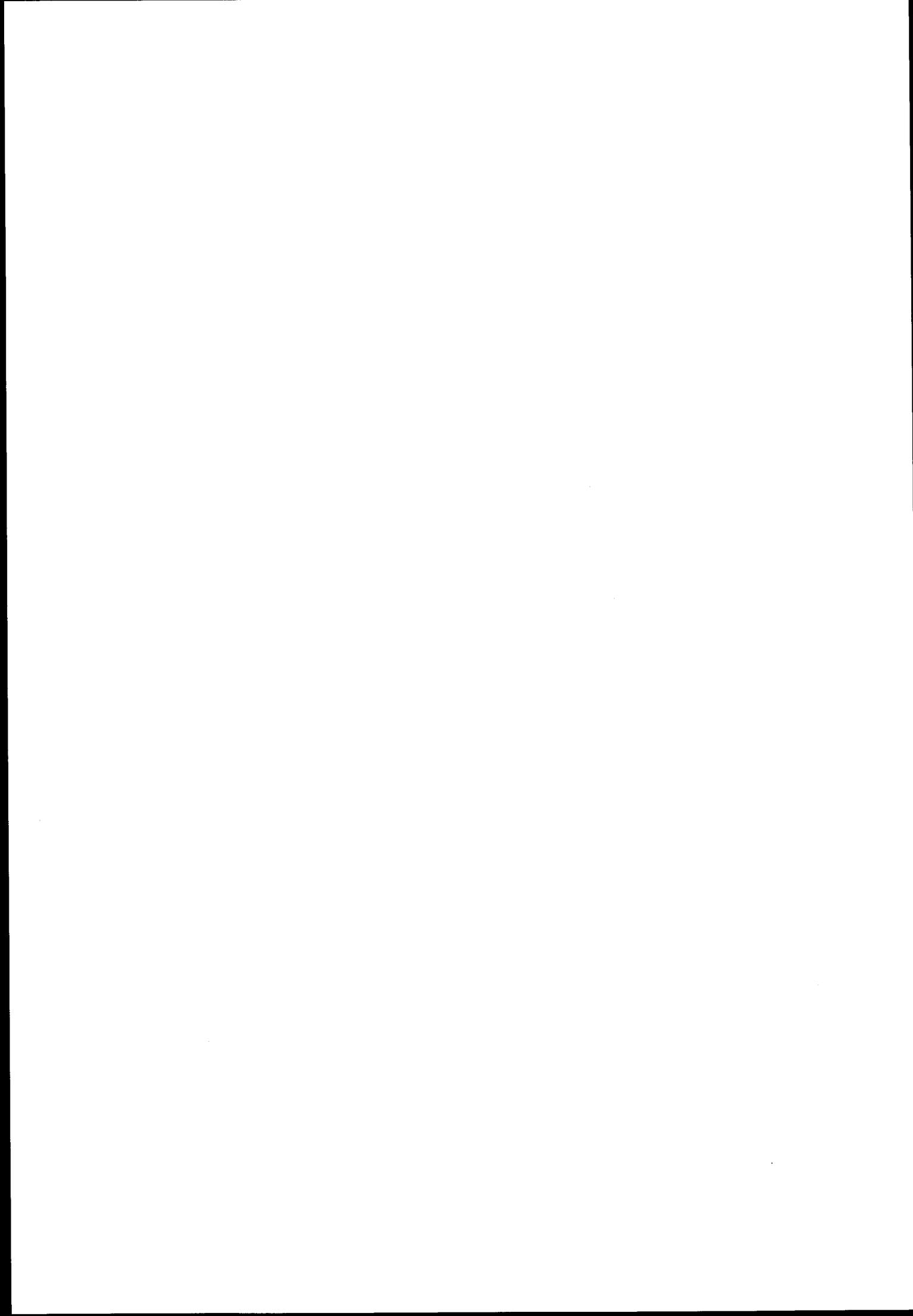
PREMIERE PARTIE

PRODUCTION EXPERIMENTALE

DE MEMBRES A FORMATIONS SURNUMERAIRES

La production expérimentale de membres multiples chez les Amphibiens peut être réalisée chez les embryons lors de la croissance des ébauches de membres ou chez les larves et adultes dont les membres sont capables de régénérer leur extrémité amputée.

La genèse des formations surnuméraires au cours de la régénération des membres sera analysée en premier lieu par l'examen des résultats d'expériences de transplantations de blastèmes de régénération sur un moignon d'amputation. Un deuxième ensemble expérimental à l'origine d'une production de membres multiples, contribuera plus spécialement à rechercher quelles sont les interactions entre les différents tissus du moignon d'amputation dans la régénération de tels membres.



## CHAPITRE I

### FORMATIONS SURNUMÉRAIRES PROVOQUÉES PAR TRANSPLANTATIONS ORTHOTOPES DE BLASTÈMES DE RÉGÉNÉRATION

Des transplantations orthotopes de blastèmes de régénération ont été réalisées chez diverses espèces d'Urodèles et ont provoqué le développement de membres multiples : MILOJEVIC (1924) sur *Triturus cristatus*, LODYZENSKAJA (1930) sur l'axolotl, ABELOOS et LECAMP (1931) sur *Triturus cristatus*, SCHWIDEFSKY (1935) sur *Triturus taeniatus* et *Triturus alpestris*, ITEN et BRYANT (1975) et BRYANT et ITEN (1976) sur *Notophthalmus viridescens* et tout récemment TANK (1978) sur *Ambystoma mexicanum*.

Certaines de ces expériences ont été reproduites sur *Pleurodeles waltlii* et complétées afin de préciser l'origine des cellules constituant le membre surnuméraire.

#### A - OPÉRATIONS

##### 1 - OBTENTION DE BLASTÈMES DE RÉGÉNÉRATION

Les membres sont amputés au niveau du bras. La régénération survient et on laisse le blastème se développer jusqu'au stade palette.

##### 2 - TRANSPLANTATIONS - CAS D'AUTOGREFFES

- a) Inversion des axes a-p et d-v du blastème de régénération par rapport aux axes correspondants du moignon

Série 1

Le blastème du membre droit est prélevé puis transplanté sur le moignon du membre gauche de sorte qu'il y ait opposition d'orientation de leurs axes  $a-p$  (Fig. 5).

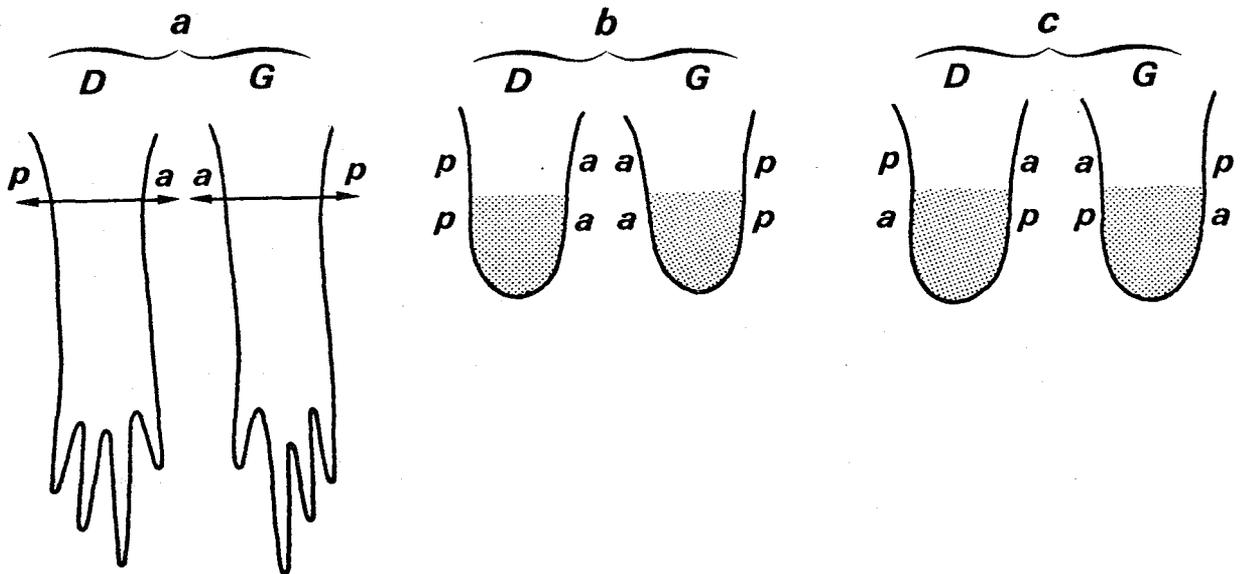


Fig. 5 - Procédure expérimentale de la série 1.

- a - Amputation des deux membres au milieu du bras.
- b - Trois semaines plus tard le blastème de régénération est au stade de palette non échancrée.
- c - Après séparation des blastèmes de leur souche, chacun d'eux est greffé sur le membre contralatéral.

Série 2

Le transfert du blastème de régénération est également hétéropleural mais accompagné d'une rotation de 180 degrés. Il y a cette fois opposition d'orientation des axes  $d-v$  des greffon et porte-greffe.

- b) Rotation de 180° du blastème de régénération par rapport au moignon de régénération

### Série 3

Cette transplantation homopleurale place tous les axes transverses du greffon en opposition avec les axes correspondants du moignon porte-greffe.

## 3 - TRANSPLANTATIONS ENTRE ANIMAUX DIPLOÏDES ET TRIPLOÏDES

### Série 4

Nous reproduisons les expériences de la série 1 en greffant des blastèmes de régénération prélevés sur des larves de Pleurodèles triploïdes, sur des moignons d'amputation de membres hétéropleuraux d'animaux diploïdes, en réalisant une opposition des axes  $a-p$  du greffon et du porte-greffe.

## B - RÉSULTATS

### 1 - RÉSULTATS DES SÉRIES 1 à 3

Le tableau 1 montre que les expériences de ces trois séries ont permis la genèse de nombreuses formations surnuméraires.

Les observations régulières de l'évolution du membre opéré montrent que le blastème greffé poursuit sa croissance et sa différenciation tandis qu'au niveau de la jonction greffon-porte-greffe, se sont développées une ou plusieurs prestations nouvelles. Le membre issu du développement du blastème greffé est appelé membre axial, tandis que les prestations nouvelles correspondent à des membres surnuméraires.

#### a) Nombre de formations surnuméraires ; Degré de développement

Sont considérées comme surnuméraires toutes les formations dont l'autopode présente de 1 à 4 doigts. Quelques fois les résultats sont explicites. Il se développe une ou deux mains surnuméraires bien développées et bien individualisées (Pl. I a, f). Souvent une fusion s'opère entre le zeugopode du membre axial et ceux des formations surnuméraires, les mains demeurant libres ou fusionnant partiellement ce qui a pour conséquence la réduction du nombre de doigts. Les figures 7 b<sub>1</sub> et 8 b<sub>1</sub> illustrent les degrés de fusion affectant aussi bien le membre axial que les formations surnuméraires. Quand le membre axial et la formation surnuméraire sont intimement fusionnés, l'ensemble se traduit par un autopode à 5 ou 6 doigts. De tels régénérats seront désignés sous les termes de "mains élargies".



Tableau 1 - Régénération de membres amputés sur le moignon desquels un blastème de régénération a été greffé. Degré de développement des régénérats (séries 1 à 3).

Séries	Nombre de cas	Aspect morphologique						Squelette du zeugopode				
		main simple	main élargie	2 mains	3 mains	plus de 3 mains	2 os	3 os	4 os	5 os	non discernables	
1	30		6	6	18		7	10	8	2	3	
2	33	4		20	9		22	6	3		2	
3	40	4	6	13	16	1	14	9	10	1	2	

L'inversion de l'axe *a-p* du blastème de régénération permet donc le développement de deux mains surnuméraires dans 18 cas sur 30 (Pl. I, a et c), d'une main surnuméraire dans 6 cas sur 30 (Fig. 6) et d'un ou deux doigts surnuméraires dans 6 cas sur 30. L'examen des squelettes de ces membres multiples révèle que dans 20 cas sur 30 il y a plus de deux os zeugopodiaux, ce qui signifie que l'élément surnuméraire est formé d'une main et d'un avant-bras (Pl. I, b ; Fig. 6 et 10).

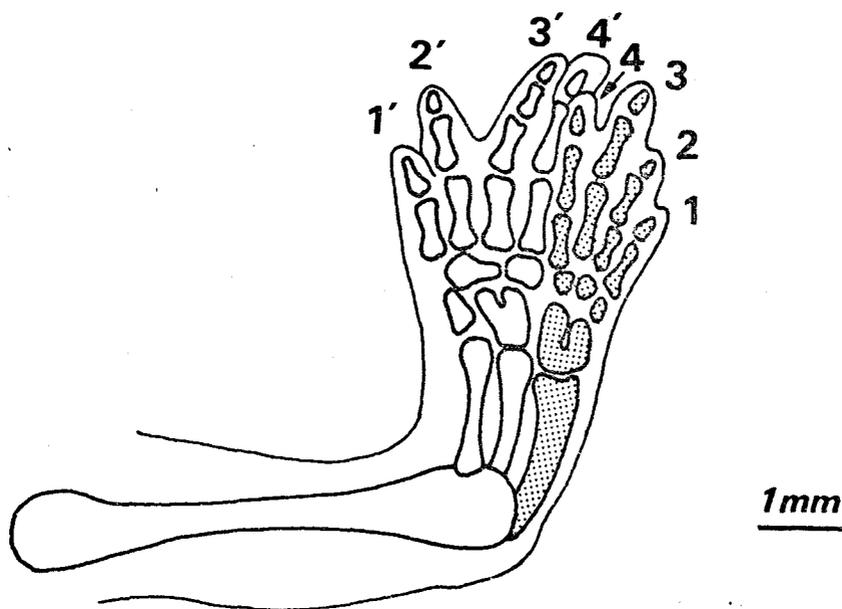


Fig. 6 - Squelette de membre de la série I montrant le développement d'une main surnuméraire sur le bord antérieur du membre axial dont le squelette est en grisé.

Par contre l'inversion de l'axe *d-v* du blastème greffé par rapport à celui du moignon porte-grefe ne permet le développement que de deux formations surnuméraires dans 9 cas sur 33 et celui d'une seule dans 20 cas sur 33 (Pl. I, d, e). Neuf squelettes présentent plus de deux os zeugopodiaux (Fig. 7, b).

Le degré de développement des formations surnuméraires de la série 3 n'est pas supérieur à celui de la série 1. Les régénérats les plus développés correspondent à des mains triples (Pl. I i, j ; Fig. 8 b, c, f) mais certains d'entre eux présentent plus de deux formations surnuméraires dont certaines se réduisent à un doigt (Pl. I g ; Fig. 8 d, e). L'analyse des squelettes montre que 20 membres multiples sur 36 ont plus de deux os zeugopodiaux.

b) Localisation des formations surnuméraires (Tableau 2)

Cette localisation est nettement définie dans la série 1. Par rapport au membre axial, les formations surnuméraires ont une position antérieure ou postérieure. Quand elles sont au nombre de deux elles se situent toujours de part et d'autre du membre axial (Pl. I, a).

Dans la série 2, quand il ne se développe qu'une main surnuméraire, celle-ci est localisée ventralement par rapport au membre axial (Pl. I, d). Quand il s'en développe deux, elles peuvent être dorsale et ventrale ou encore antérieure et postérieure (Pl. I, e).

Dans la série 3, une tendance au rétablissement de l'orientation du membre axial se manifeste dans quelques cas. L'examen du tableau 2 montre que la localisation des formations surnuméraires peut être très variable.

c) Orientation des formations surnuméraires

Dans les séries 1 et 2, quand le membre surnuméraire a des axes transverses  $a-p$  et  $d-v$  bien définis, il apparaît comme étant symétrique du membre axial, par rapport à un plan ; en d'autres termes, le membre axial et le membre surnuméraire sont des images en miroir l'un de l'autre. Ainsi dans la série 1 les axes  $d-v$  de tous les éléments du membre multiple sont orientés de la même façon tandis que l'axe  $a-p$  du membre axial est inversé par rapport à ceux de l'un ou l'autre des membres surnuméraires (Pl. I, a, b). Dans la série 2, les doubles mains sont le plus souvent opposées par leurs faces dorsales (Pl. I, d). Dans les cas où les formations surnuméraires de la série 2 sont localisées sur les bords antérieur et postérieur du membre axial, les relations de symétrie sont celles décrites dans la série 1 (Pl. I, e).

La conséquence de ces relations de symétrie est que la latéralité du membre axial est toujours opposée à celle des membres surnuméraires : si le membre axial a l'asymétrie du membre gauche, les formations surnuméraires auront l'asymétrie du membre droit. De telles relations sont conformes aux lois de BATESON (1894) précisées par HARRISON (1921).

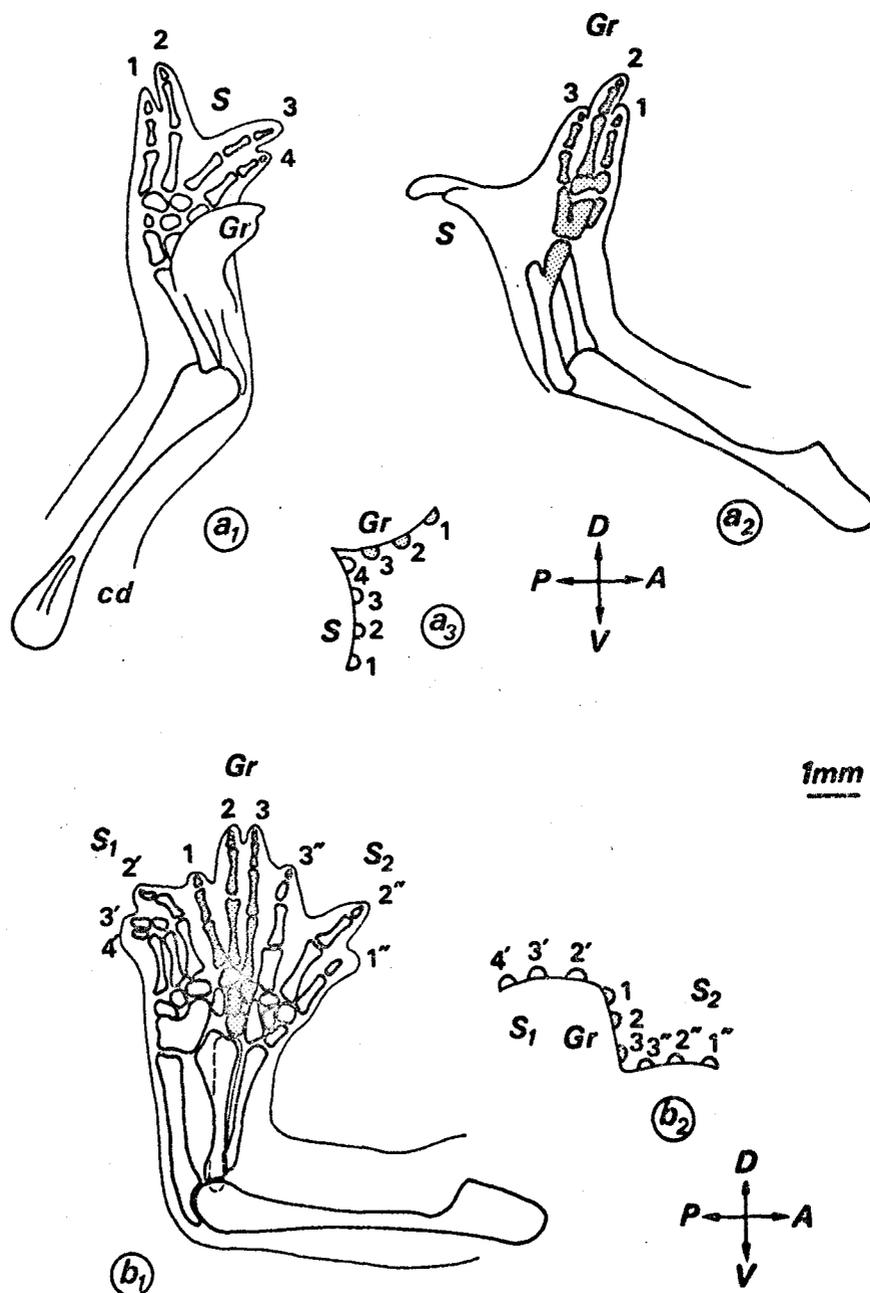


Fig. 7 - Régénérats de la série 2.

a<sub>1</sub>, a<sub>2</sub>, a<sub>3</sub> - Un membre régénéré gauche à double main est représenté en vue antérieure (a<sub>1</sub>) ce qui permet d'observer le squelette de la main surnuméraire ventro-postérieure, et en vue dorsale (a<sub>2</sub>) ce qui montre le membre axial. En a<sub>3</sub>, les deux mains sont schématisées par leurs doigts. Chacun d'eux se présente en section transversale sous forme d'un demi-cercle, la partie arquée correspondant à la face dorsale et la partie droite à la face ventrale ou palmaire (F. palm.).

b<sub>1</sub>, b<sub>2</sub> - Ce membre gauche présente un autopode composé de trois mains. Deux des quatre os du zeugopode peuvent être attribués aux membres surnuméraires S<sub>1</sub> et S<sub>2</sub>. Les deux autres os zeugopodiaux doivent correspondre à ceux du membre axial probablement fusionnés avec les os zeugopodiaux manquants des membres surnuméraires. b<sub>2</sub> schématise l'orientation et la position relative des trois mains de ce membre.

Gr : membre issu du greffon ; S : membre surnuméraire.





Tableau 2 - Localisation des formations surnuméraires par rapport au membre axial (séries 1 à 3).

Série	$a_1$	$p$	$d$	$v$	$a + d$	$a + v$	$a + p$	$p + v$	$d + v$	$p + ad$	$pd + ap$	$p, v + d$	non discernables
1	4	3		18			18						5
2				18			3		5		1		2
3	6	2	4	2	1	2	4	2	1	1		1	11

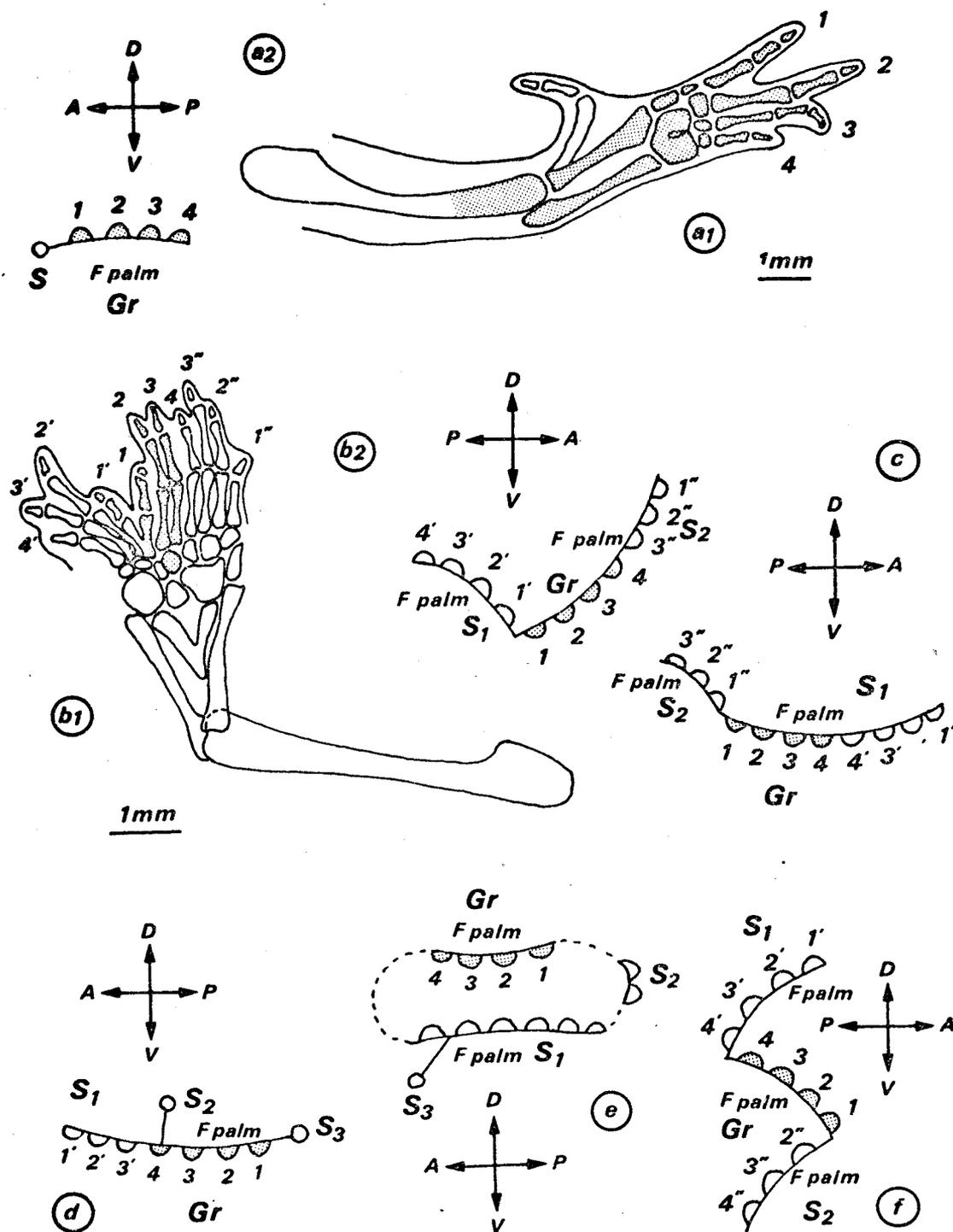


Fig. 8 - Régénérats de la série 3. a<sub>2</sub>, b<sub>2</sub>, c, d, e, f : Six schémas de membres multiples dont on a représenté l'orientation et la position relative des doigts. Les doigts sont représentés le plus souvent par des demi-cercles, l'arc représentant la face dorsale et le diamètre la face ventrale ; et quelquefois par des cercles quand l'orientation d-v n'a pas pu être établie. Le régénérat axial issu du développement du greffon (Gr.) est hachuré. S, S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub>, correspondent aux ensembles autopodiaux surnuméraires. a<sub>1</sub> et b<sub>1</sub> sont les squelettes correspondant à a<sub>2</sub> et b<sub>2</sub>.

Dans la série 3, l'orientation des formations surnuméraires n'est pas homogène. Quand les axes  $\alpha-p$  et  $d-v$  de deux mains voisines peuvent être déterminés, on constate que ces mains peuvent être des images en miroir l'une de l'autre (Pl. I f, Fig. 8 b, c, d) et dans ce cas elles sont de latéralité opposée. Dans d'autres cas, ces mains ne sont pas symétriques par rapport à un plan et sont de même latéralité, l'une présentant un retournement de 180 degrés autour de son axe proximo-distal, par rapport à l'autre (Pl. I h, i, j ; Fig. 8 b, c, f). Cette dernière situation n'est pas en accord avec les lois de BATESON-HARRISON.

Dans cette série 3, il existe par ailleurs des formations surnuméraires constituées d'un ou deux doigts, bien individualisées dont on ne peut définir que l'axe  $d-v$  et aussi des mains à plus de quatre doigts qui correspondent vraisemblablement à une double main dont l'orientation  $d-v$  est constante dans toute l'étendue de cette prestation (Pl. I g ; Fig. 8 e).

Il faut signaler enfin que l'orientation de l'axe  $d-v$  n'est pas toujours facile à repérer. Les critères de pigmentation (face dorsale pigmentée) et d'articulation des doigts utilisés pour distinguer la face palmaire de la face dorsale conduisent à reconnaître des mains à deux faces dorsales ou encore des mains surnuméraires à 4 doigts où l'orientation de l'axe  $d-v$  des deux premiers doigts est l'inverse de celle des deux autres doigts.

## 2 - RESULTATS DE LA SERIE 4

Afin de connaître la participation respective des tissus du moignon et du blastème greffé à la constitution des membres surnuméraires nous avons entrepris d'analyser la ploïdie des membres régénérés surnuméraires lorsque le moignon est celui d'un animal diploïde et le blastème greffé celui d'un animal triploïde.

Chez de nombreux animaux les régénérats présentaient des nécroses, principalement au niveau du membre axial (Fig. 9). C'est pourquoi l'analyse de la ploïdie a été faite sur un membre régénéré dont les doigts sont à peine formés. Une seule analyse a été faite à ce jour sur les noyaux des cellules cartilagineuses en 24 régions différentes d'un membre triple (Fig. 10). Un échantillon de 50 noyaux est soumis à la mesure cytophotométrique et les valeurs du chromophore mesuré permettent d'établir un diagramme de fréquence pour chacune des 24 régions (Fig. 11). En réalité dans la population numéro 24, seuls 7 noyaux étaient

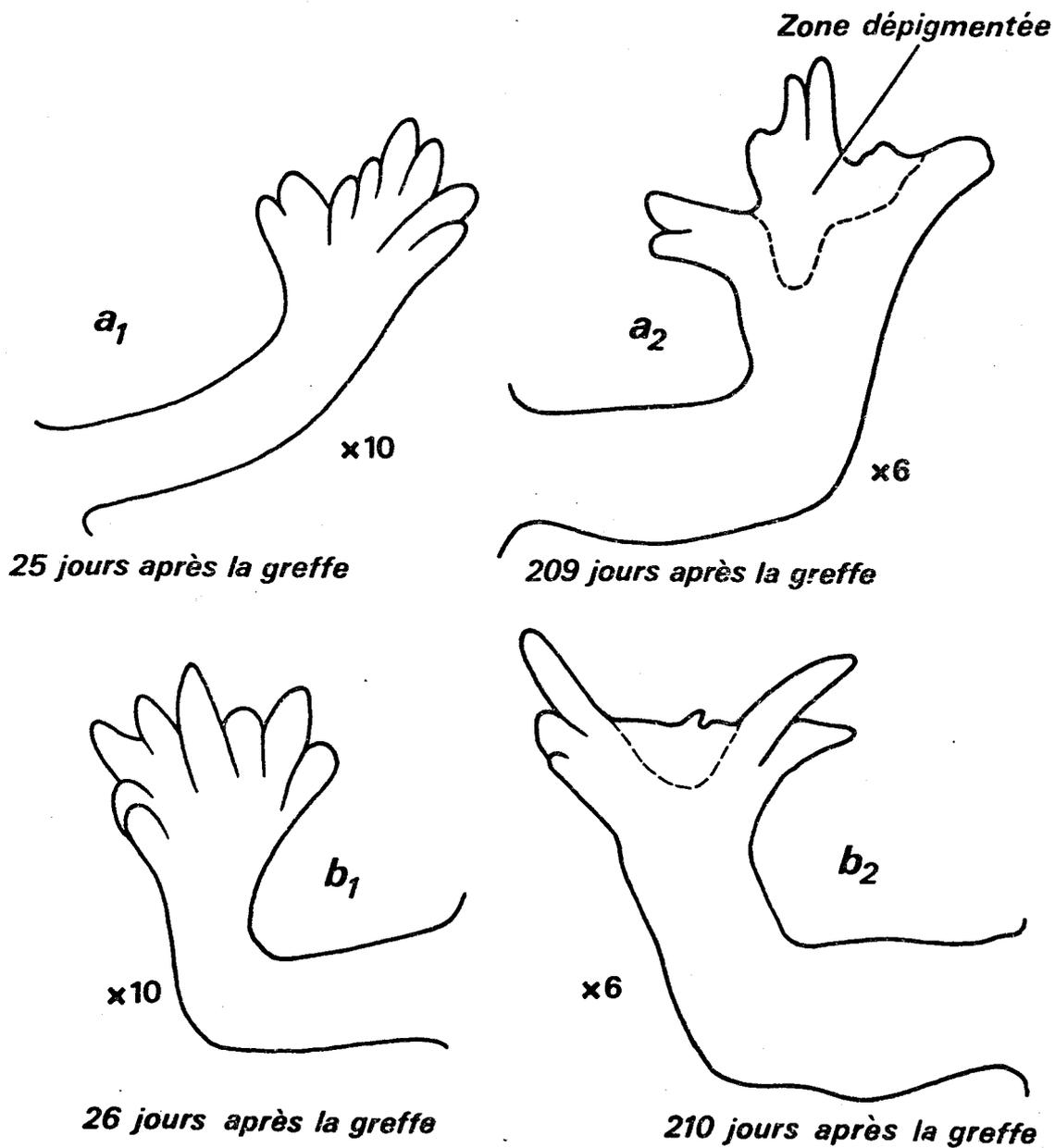


Fig. 9 - Les nécroses qui apparaissent sur les membres où des homogreffes ont été réalisées se manifestent d'abord par une dépigmentation (membre *a*<sub>2</sub>) suivie d'une régression (membre *b*<sub>2</sub>).

mesurables. Les valeurs des chromophores de ces noyaux permettent seulement d'affirmer qu'il existe des cellules diploïdes. Aux diagrammes de fréquence se superposent les valeurs  $m_1$  et  $m_2$  des chromophores correspondant aux cellules diploïdes et triploïdes. La valeur  $m_1$  des valeurs du chromophore pour les noyaux des cellules diploïdes est établie à partir d'un échantillon de 100 noyaux de cellules cartilagineuses du tarse. Pour cela 50 cellules sont analysées sur deux préparations différentes. La valeur  $m_2$  du chromophore des noyaux des cellules triploïdes est calculée en multipliant par 1,5 la valeur  $m_1$ . La grandeur des classes des histogrammes est choisie de façon à ce que  $m_1$  et  $m_2$  soient suffisamment distantes, et situées l'une et l'autre au centre d'une classe. Pour ce membre particulier on constate que tout le membre axial dérive du greffon triploïde et que chaque membre surnuméraire est composé de cellules dérivant à la fois du moignon et du greffon (Fig. 12).

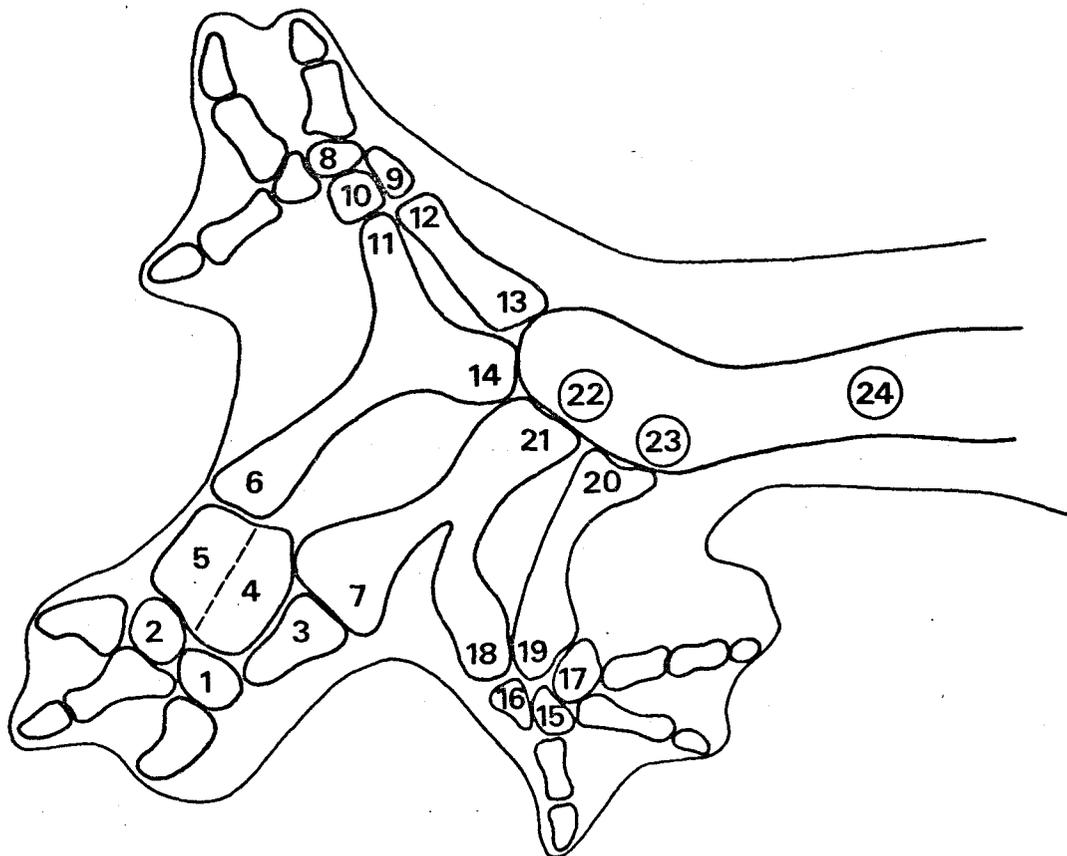


Fig. 10 - Squelette régénéré de la série 4 sur lequel sont numérotés les éléments cartilagineux - tarse, épiphyses des os zeugopodiaux ou stylopodiaux - qui font l'objet d'une analyse cytophotométrique afin d'en connaître la ploïdie.

## C - DISCUSSION

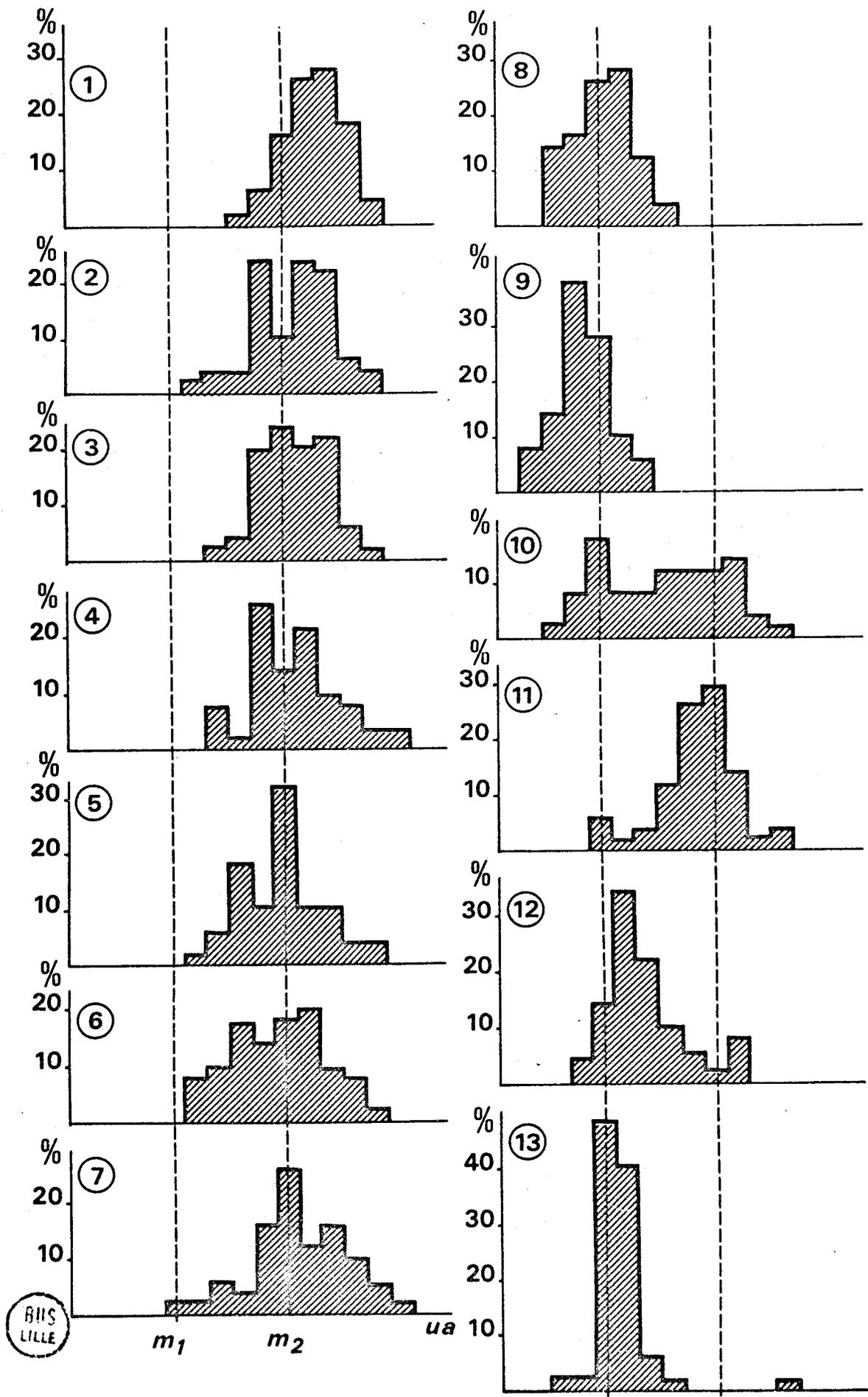
Le membre multiple régénéré étant composé d'un élément axial, résultat du développement du blastème greffé et d'une ou de plusieurs formations surnuméraires apparues à la périphérie de la zone de contact entre le greffon et le moignon d'amputation, nous discuterons successivement du développement des blastèmes greffés et de la genèse des formations surnuméraires.

### 1 - DEVELOPPEMENT DES BLASTEMES GREFFES

MILOJEVIC (1924) après avoir greffé des blastèmes de régénération de membre de *Triturus cristatus* sur le flanc ou sur un moignon de membre hétéropleural a pu définir une "période critique" de 12 jours au delà de laquelle le blastème se développe de façon autonome. Un blastème de régénération devient donc capable d'autodifférenciation dans un délai de 12 jours et puisqu'il conserve son asymétrie d'origine, ses axes *a-p* et *d-v* sont déterminés. Cette "période critique" correspond au stade cône du blastème de régénération, stade précédant celui de palette que nous avons utilisé dans nos expériences. L'autodifférenciation des blastèmes a été confirmée par METTETAL (1939), FABER (1960, 1962, 1965), PIETSCH (1961), DE BOTH (1965, 1970), STOCUM (1968), STOCUM et DEARLOVE (1972).

Nous constatons que les blastèmes greffés effectuent leur croissance et leur différenciation indépendamment du porte-greffe. Leur degré de développement proximo-distal est toutefois toujours plus faible que dans les cas où le blastème poursuit sa croissance sans perturbation. En effet le blastème correspondait au stylopode distal, au zeugopode et à l'autopode. Après régénération du membre opéré, le membre axial correspond au mieux à l'ensemble de la main et du zeugopode distal. Cette observation sera renouvelée ultérieurement et discutée au chapitre V.

De plus, nous avons observé une tendance au rétablissement d'orientation des blastèmes greffés de la série 3. Il suffit dans ce cas, d'une rotation de 180 degrés du blastème pour que toutes les faces du moignon et du greffon se retrouvent en coïncidence. Cette rotation du blastème se réalise progressivement au cours de la croissance comme si les cellules des faces correspondantes se reconnaissaient et tendaient à se rapprocher. Un tel rétablissement a été observé chez les embryons de Batraciens (HARRISON, 1921) et chez certains Arthropodes quand on réalise la rotation de 180 degrés de l'extrémité d'un appendice sur la base du même appendice (BOHN, 1965, sur la blatte *Leucophaea maderae* ; BULLIERE, 1970, sur la blatte *Blaberus craniifer* ; LHEUREUX, résultats non publiés sur l'araignée *Tegenaria saeva*).



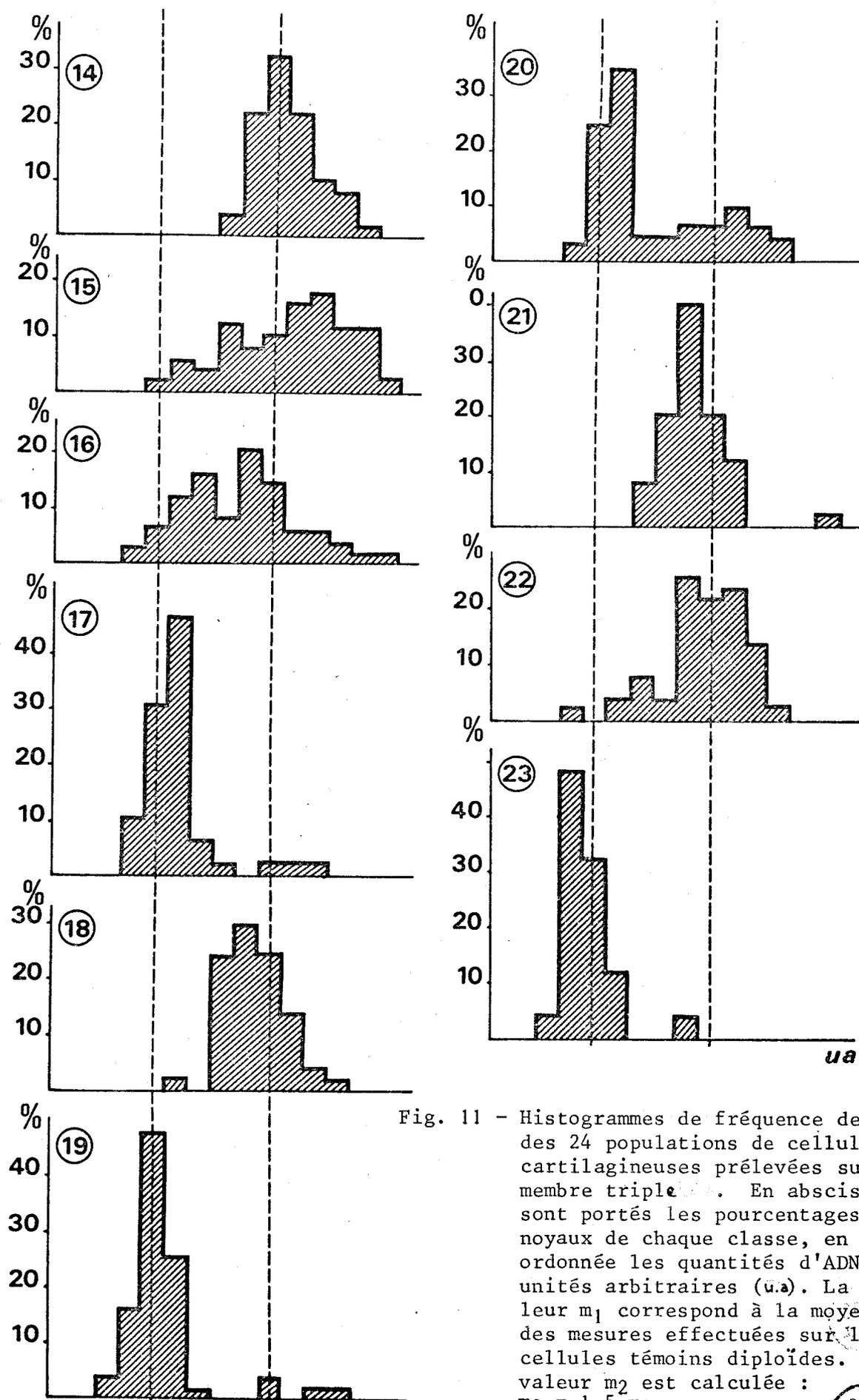


Fig. 11 - Histogrammes de fréquence de 23 des 24 populations de cellules cartilagineuses prélevées sur le membre triple. En abscisse sont portés les pourcentages de noyaux de chaque classe, en ordonnée les quantités d'ADN en unités arbitraires (ua). La valeur  $m_1$  correspond à la moyenne des mesures effectuées sur les cellules témoins diploïdes. La valeur  $m_2$  est calculée :  $m_2 = 1,5 m_1$ .

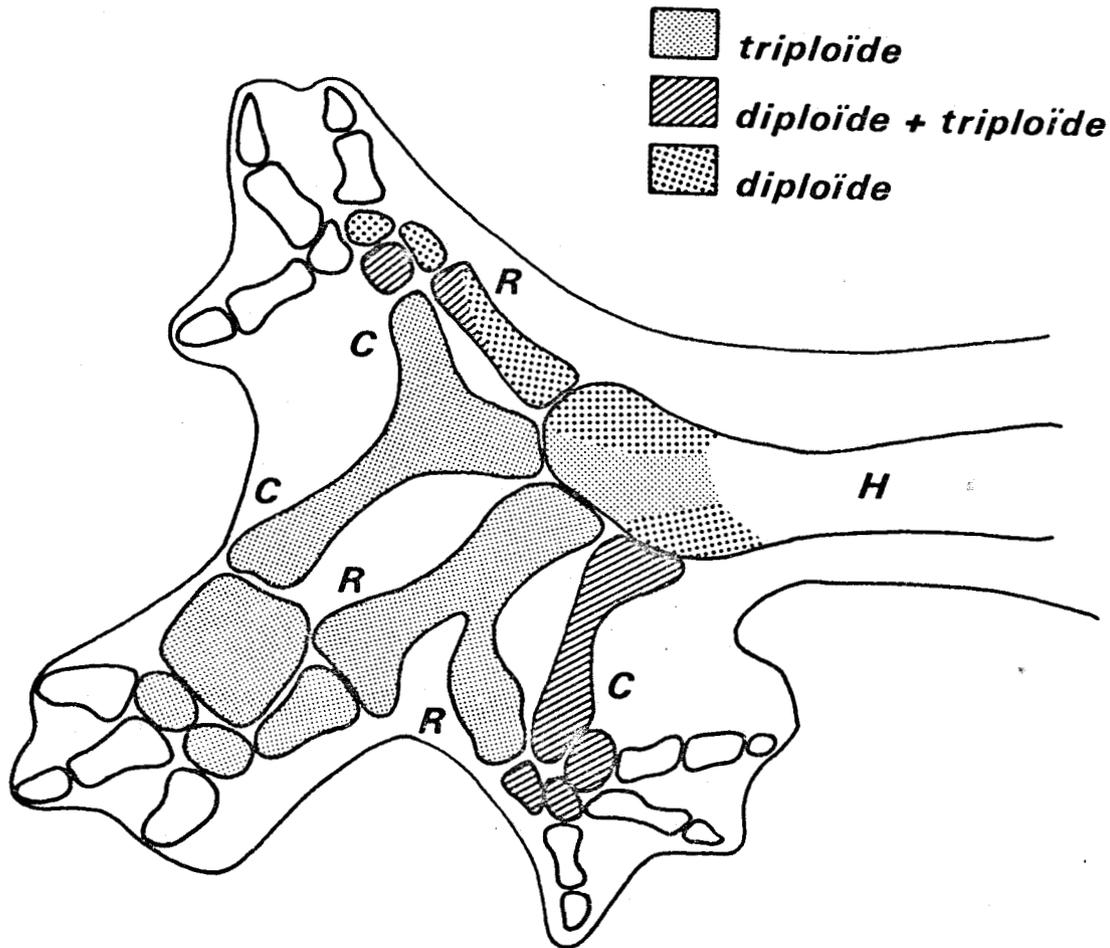


Fig. 12 - Répartition des cartilages diploïdes et triploïdes dans le membre triple représenté à la Fig. 9.

## 2 - GENESE DES CENTRES MORPHOGENETIQUES SURNUMERAIRES

### a) Interprétation des résultats des séries 1, 2 et 4

L'analyse de nos résultats permet de reconnaître un ensemble de caractères communs aux membres régénérés. Rappelons à cet égard ceux des séries 1 et 4 (Fig. 13) :

- les formations surnuméraires sont au nombre d'une ou de deux ;
- elles sont localisées sur les faces antérieure et (ou) postérieure du membre opéré ;



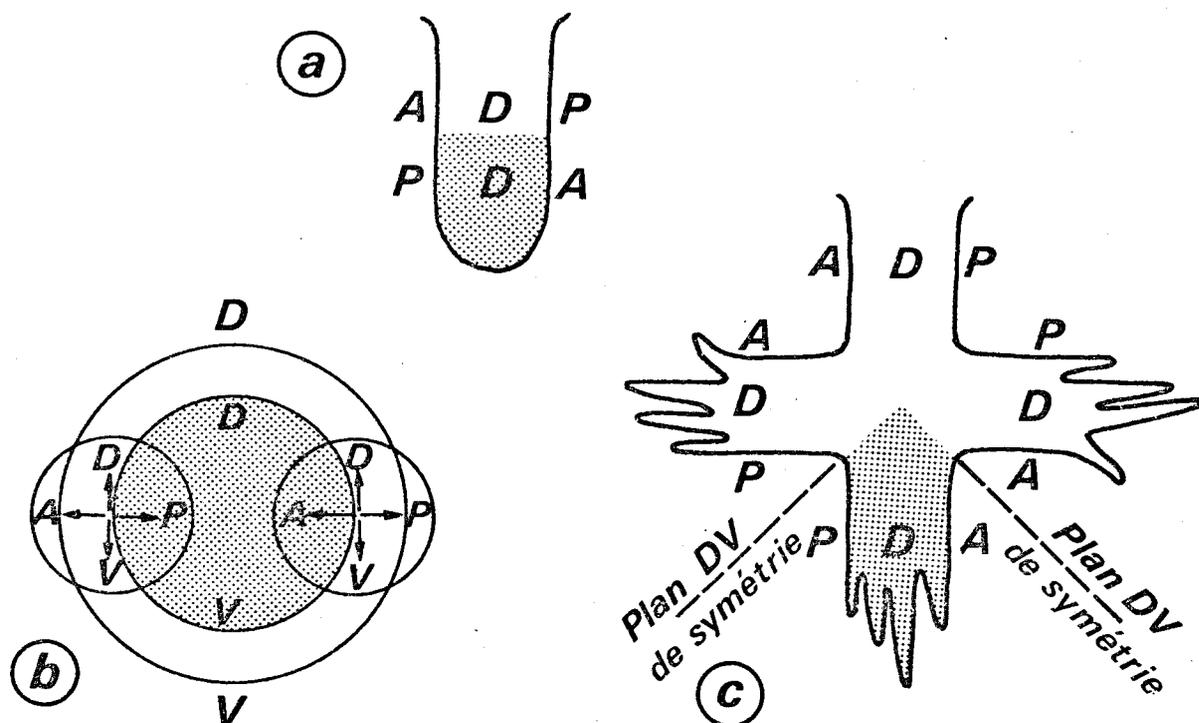


Fig. 13 - Relations de symétrie entre régénérat axial et membres surnuméraires et genèse des centres morphogénétiques surnuméraires dans l'exemple de la première série d'expériences.

Le blastème greffé et le membre axial résultant de son développement sont grisés.

- a - Relations entre greffon et porte-greffe en vue dorsale.
- b - Relations entre greffon et porte-greffe en vue distale, les deux grands cercles représentant les surfaces de contact du greffon et du porte-greffe. La surface de contact du greffon a été artificiellement réduite pour que les qualités des tissus des surfaces en contact soient représentées distinctement.
- c - Relations de symétrie entre le membre porte-greffe, le membre axial et les membres surnuméraires, en vue dorsale.

Les deux petits cercles du schéma b entourent les centres morphogénétiques induits au niveau des contacts entre tissus de qualités *a* et *p* du greffon et du porte-greffe. L'orientation des axes *ap* et *dv* de ces centres est directement dictée par la position relative des qualités des tissus en contact.

Les deux membres surnuméraires et le membre porte-greffe ont la même asymétrie (b et c). Les deux membres surnuméraires sont des images en miroir du membre axial (c).

- les qualités  $a$ ,  $p$ ,  $d$  et  $v$  de ces membres surnuméraires sont toujours en continuité avec celles du moignon ou du greffon ;
- l'analyse du membre de la série 4 montre que les membres surnuméraires peuvent être édifiés à la fois par des cellules du moignon et par des cellules du blastème greffé.

Comme les blastèmes surnuméraires sont apparus au contact du moignon et du greffon, sur leurs bords antérieur et postérieur, on peut supposer que les centres morphogénétiques à l'origine des formations surnuméraires sont situés à ces niveaux. Les tissus de qualités opposées antérieure et postérieure, associés dans les expériences des séries 1 et 4 déterminent également l'orientation des axes  $a-p$  et  $d-v$  des membres surnuméraires ainsi que leur composition. Il est alors permis de penser que c'est le contact de ces tissus de qualités opposées qui est à l'origine de l'induction des centres morphogénétiques surnuméraires.

Cette explication est l'application, aux membres de Vertébrés en régénération de l'hypothèse émise par BART (1965) sur le déclenchement de morphogénèse d'appendices surnuméraires chez l'Insecte *Carausius morosus*.

Cette explication est également valable dans le cas d'une opposition d'axe  $d-v$  entre moignon et blastème greffé, c'est-à-dire quand on associe expérimentalement les tissus de qualités dorsale et ventrale (Fig. 14).

Quand un seul membre surnuméraire se forme, on peut supposer que deux centres morphogénétiques se mettent néanmoins en place, mais que l'un d'eux ne peut pas s'exprimer faute de stimulation suffisante. Nous verrons dans le chapitre VII, l'importance de la stimulation des nerfs dans le développement des formations surnuméraires.

Certains régénérats de la série 2 montrent curieusement le développement de membres surnuméraires sur les bords antérieur et postérieur du membre axial. Ces résultats sont en concordance avec ceux de la série 1. Supposons que le blastème greffé ait été mal orienté, par exemple à 90 degrés par rapport à la position qu'il devait avoir (Fig. 15 b). Puisque la transplantation est hétéropleurale il y a toujours un axe et un seul le long duquel des tissus de qualités opposées (ou de valeurs de position différant de 6 unités) sont mis en contact. Dans ce cas précis ce sont les qualités opposées dorso-postérieure et antéro-ventrale du moignon et du greffon qui entrent en contact. A ces niveaux, des membres surnuméraires peuvent se développer (Fig. 15 b<sub>2</sub> et b<sub>3</sub>). Un tel cas semble s'être produit comme en témoigne la Fig. 7 b<sub>2</sub>.

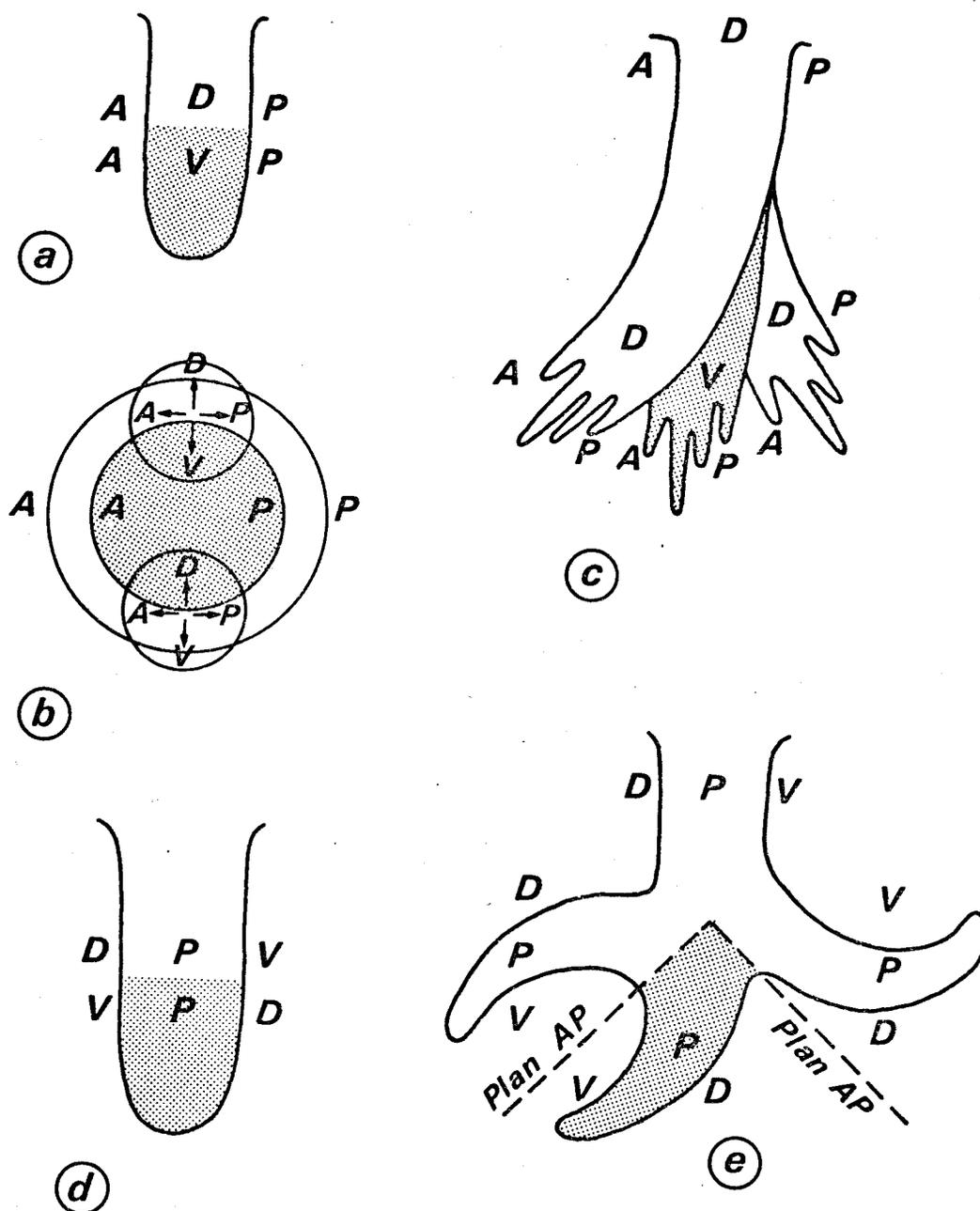


Fig. 14 - Relations de symétrie entre régénérat axial et membres surnuméraires et genèse des centres morphogénétiques surnuméraires dans l'exemple de la deuxième série d'expériences.

Les conventions sont les mêmes qu'à la Fig. 9.

a et d - Relations entre greffon et porte-greffe en vues dorsale et postérieure.

b - Relations entre greffon et porte-greffe en vue distale.

c et e - Relations de symétrie entre le membre porte-greffe, le membre axial et les membres surnuméraires, en vues dorsale et postérieure.

Les centres morphogénétiques surnuméraires sont entourés de deux petits cercles en b.

Les deux membres surnuméraires sont des images en miroir du membre axial.

Si le blastème greffé subit une rotation complémentaire de 90 degrés, nous reproduisons l'expérience de la série 1. Il est peu probable que nous nous soyons mépris au point de reproduire l'expérience de la série 1 dans la série 2. Remarquons par contre, que cette tendance au développement de membres surnuméraires sur les bords  $a$  et  $p$  s'est répétée trois fois dans la série 2, alors qu'aucune modification ne s'est faite dans la série 1. Il doit donc exister une tendance au rétablissement de la polarité  $d-v$  du blastème greffé conformément à celle du moignon. La tendance au rétablissement de l'axe  $d-v$  du greffon par rapport à celui du moignon serait plus forte que la tendance au rétablissement  $a-p$ , si toutefois celle-ci existe. Des expériences de transplantation hétéropleurale de blastème dont l'axe  $a-p$  est superposé à l'axe  $d-v$  (ou  $v-d$ ) du moignon (Fig. 15 b) nous apporterons des résultats complémentaires à ce sujet.

Bien que toute généralisation soit prématurée, l'examen de l'analyse de la ploïdie du membre triple (Fig. 12) montre que les tissus du moignon et ceux du blastème greffé peuvent participer également à la constitution des membres régénérés, résultat en complet accord avec notre hypothèse.

Il faut noter que les éléments du carpe les plus postérieurs et les plus distaux semblent être de même ploïdie que le cubitus. Cette observation confirme les résultats de l'étude de BENZO *et al.* (1975) sur la morphogenèse régénératrice des éléments du carpe chez *Notophthalmus viridescens*. Chez ce triton l'ulnaire et les 4 éléments carpeaux distaux sont issus d'un centre de chondrogenèse ulnaire, tandis que le radial, l'intermédiaire, le central et le pre-pollicis dérivent d'un centre radial.

#### b) Interprétation des résultats de la série 3

Les résultats de la troisième série d'expériences se distinguent de ceux des deux premières séries par les éléments suivants :

- Les formations surnuméraires ne sont plus localisées de façon préférentielle sur les faces  $a$  et  $p$  ou  $d$  et  $v$  du membre opéré.
- Elles ne correspondent plus toujours à un ou deux membres simples. A côté du régénérat axial, ont pu se développer deux ou plus de deux éléments dont certains correspondent à des mains de plus de 4 doigts.
- Les formations surnuméraires ne sont pas toujours des images en miroir du membre axial.



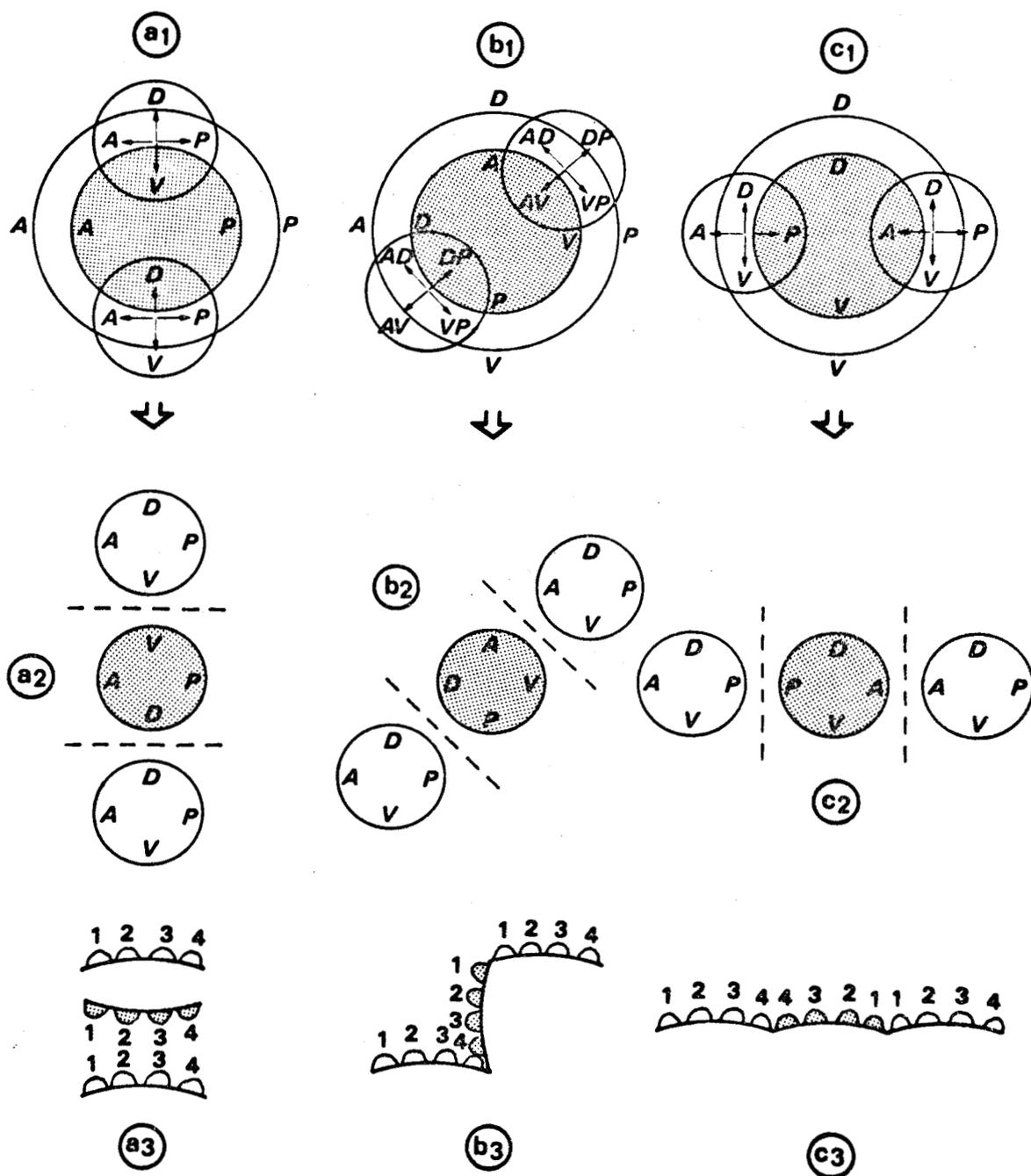


Fig. 15 - Explication du passage continu des résultats de la série 2 (a) à ceux de la série 1 (c) par deux rotations de 90 degrés des greffons faites dans le même sens. Ces rotations pourraient s'expliquer par une tendance au rétablissement de l'axe  $d-v$  du greffon par rapport à celui du moignon porte-greffe.

L'hypothèse émise à propos de la genèse des membres surnuméraires dans les séries précédentes permet-elle d'expliquer de tels résultats ? La greffe homopleurale d'un blastème de régénération accompagnée d'une rotation de 180 degrés autour de son axe proximo-distal a pour conséquence l'établissement au niveau de chaque contact entre les cellules du moignon et du blastème d'une hétérogénéité maximale ou encore, selon le modèle de FRENCH *et al* (1976) d'une différence maximale de 6 unités entre les valeurs de position des cellules mises en présence. Dans les séries précédentes cette situation n'était réalisée qu'en deux endroits seulement. Potentiellement, le nombre de centres morphogénétiques est donc très grand, limité seulement par le nombre de cellules nécessaires pour constituer un centre morphogénétique. La Fig. 16 matérialise par des cercles huit de ces centres. Considérons par exemple le centre situé à la face ventrale du moignon. Le membre surnuméraire qui peut y prendre naissance a son axe *d-v* parfaitement défini. Par contre, il y a conflit d'influence en ce qui concerne l'établissement de l'orientation *a-p*. Ce même conflit se retrouve dans la zone la plus dorsale (cercle le plus dorsal de la Fig. 16). Le membre surnuméraire peut aussi se former dans la zone la plus antérieure ou la zone la plus postérieure (cercles antérieur et postérieur de la Fig. 16). Son axe *a-p* est alors parfaitement défini, mais il y a conflit d'orientation *d-v*. Dans ce cas le doigt 4 (ou 1) du membre surnuméraire est contigu au doigt 4 (ou 1) du membre axial retourné (Fig. 8 b, c, d, f). Quand l'axe *d-v* du membre surnuméraire est conforme à celui du membre axial (Fig. 8  $b^{s2}$ ,  $c^{s1}$ ,  $d^{s1}$ ), on peut supposer que le greffon a imposé sa polarité *d-v* au membre surnuméraire. Dans le cas contraire (Fig. 8,  $b^{s1}$ ,  $c^{s2}$ ,  $f^{s1}$  et  $s2$ ), c'est le porte-grefe qui a imposé sa polarité. Dans le premier cas le membre surnuméraire et le membre axial sont symétriques par rapport à un plan. Ils ont une asymétrie de membres opposés. Dans le second cas les deux membres adjacents ont la même asymétrie et ne répondent pas aux lois de symétrie de BATESON-HARRISON. Cette situation s'observe souvent, dans nos résultats, sur le bord postérieur du membre opéré (Fig. 8 b, c) mais parfois sur les bords antérieur et postérieur (Pl. I, i, j ; Fig. 8 f). Le grand nombre de centres potentiels de morphogenèse et les situations de conflit d'orientation entre moignon et greffon, permettent de comprendre la multiplicité des formes, des positions et des orientations des membres surnuméraires. La main surnuméraire à 6 doigts (Pl. I g ; Fig. 8 e) est le résultat d'une fusion partielle de deux centres morphogénétiques surnuméraires voisins.

Signalons également quelques cas de détorsion du blastème greffé, le ramenant en position normale. Les formations surnuméraires sont alors faibles (Fig. 8 a) ou nulles.

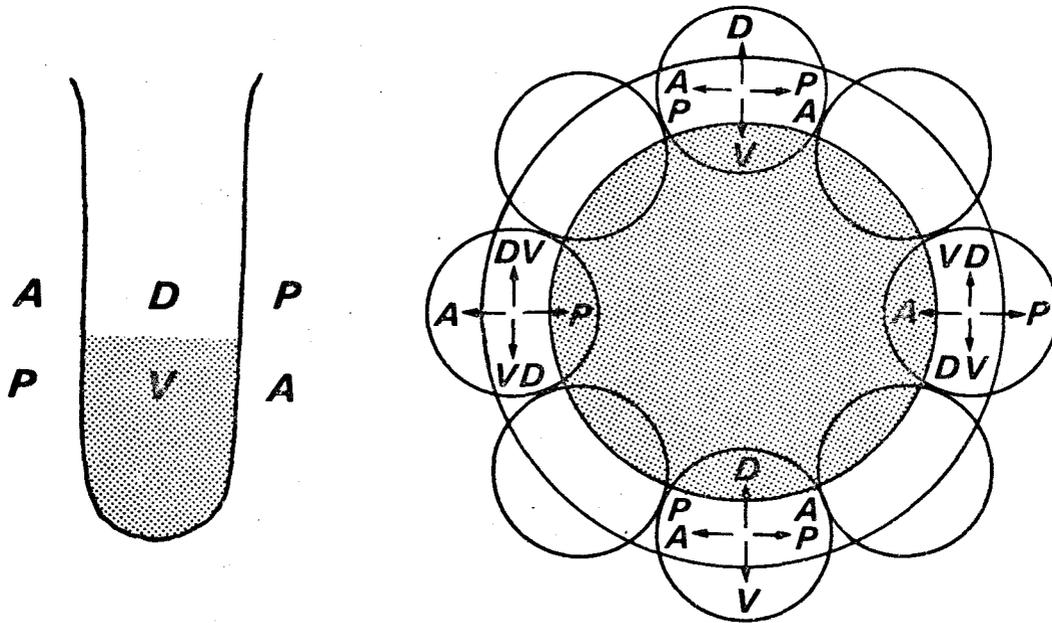


Fig. 16 - Relations de symétrie entre blastème greffé (grisé) et moignon porte-greffe.

- a - en vue dorsale
- b - en vue polaire.

En b huit petits cercles représentent huit centres morphogénétiques potentiels. Sur quatre d'entre-eux sont indiqués les axes transverses. Pour chacun d'eux, un des axes est déterminé tandis qu'un conflit d'influence s'établit à propos de l'établissement de l'autre axe transverse.

### c) Discussion

La production de membres surnuméraires consécutive à la transplantation hétéropleurale de blastèmes de régénération est équivalente à celle obtenue dans des conditions expérimentales analogues chez d'autres Amphibiens (MILOJEVIC, 1924 ; LODYŽENSKAJA, 1930 ; ABELOOS et LECAMP, 1931 ; SCHWIDELFSKY, 1935 ; ITEN et BRYANT, 1975 ; BRYANT et ITEN, 1976 ; TANK, 1978).

Par contre, quelques différences apparaissent dans les résultats des expériences de transplantation homopleurale avec rotation de 180 degrés. Nos résultats montrent des variations dans le degré de développement, la localisation et l'orientation relatives des formations surnuméraires. A l'opposé, MILOJEVIC (1924), LODYŽENSKAJA (1930), BRYANT et ITEN (1976) obtiennent le plus souvent deux membres surnuméraires. Ces auteurs constatent, comme nous, des cas où la symétrie des éléments du membre double ou triple ne répond pas aux lois de BATESON-HARRISON. BRYANT et ITEN (1976) ont généralisé leurs résultats comme suit : quand deux membres surnuméraires sont formés, l'un, en position dorso-postérieure est l'image en miroir du membre axial (8 cas certains sur 16) tandis que l'autre, en position antéro-ventrale ne l'est pas (5 cas certains sur 12). ABELOOS et LECAMP (1931) admettent l'importance d'une opposition d'orientation des axes transverses du moignon et du blastème greffé, mais seules BRYANT et ITEN (1976) tentent d'expliquer la genèse des centres surnuméraires. L'une d'entre elles a participé à l'élaboration du modèle d'explication de la genèse des centres surnuméraires (FRENCH *et al.*, 1976) que nous avons présenté succinctement dans l'introduction.

Dans leur modèle général, FRENCH *et al.* attribuent à la périphérie du membre ou de l'appendice des valeurs de position régulièrement espacées allant de 1 à 12/0 (Fig. 17 a). Les auteurs supposent que le contact de tissus de valeurs de position différente a pour résultat l'intercalation des valeurs intermédiaires selon la route la plus courte (première loi). Par exemple le contact de cellules aux valeurs de position égales à 3 et 12/0 intercalera seulement les valeurs 1 et 2. La deuxième loi est appelée loi du cercle complet, c'est-à-dire qu'une séquence complète de valeurs de position doit être exposée - par exemple au niveau d'un moignon d'amputation - ou régénérée - par intercalation de valeurs de position selon la première loi - pour qu'une transformation distale ait lieu.

Nous acceptons volontiers la numérotation des valeurs de position à la périphérie du membre, et discuterons de la généralisation des lois formulées par les auteurs dans notre troisième chapitre. Toutefois, une complication a été apportée par S. BRYANT dans ce modèle afin de l'adapter au membre d'Urodèle et plus particulièrement pour pouvoir donner une explication à la genèse des membres surnuméraires consécutive à une transplantation homopleurale de blastèmes de régénération avec rotation de 180 degrés (BRYANT et ITEN, 1976). Chez

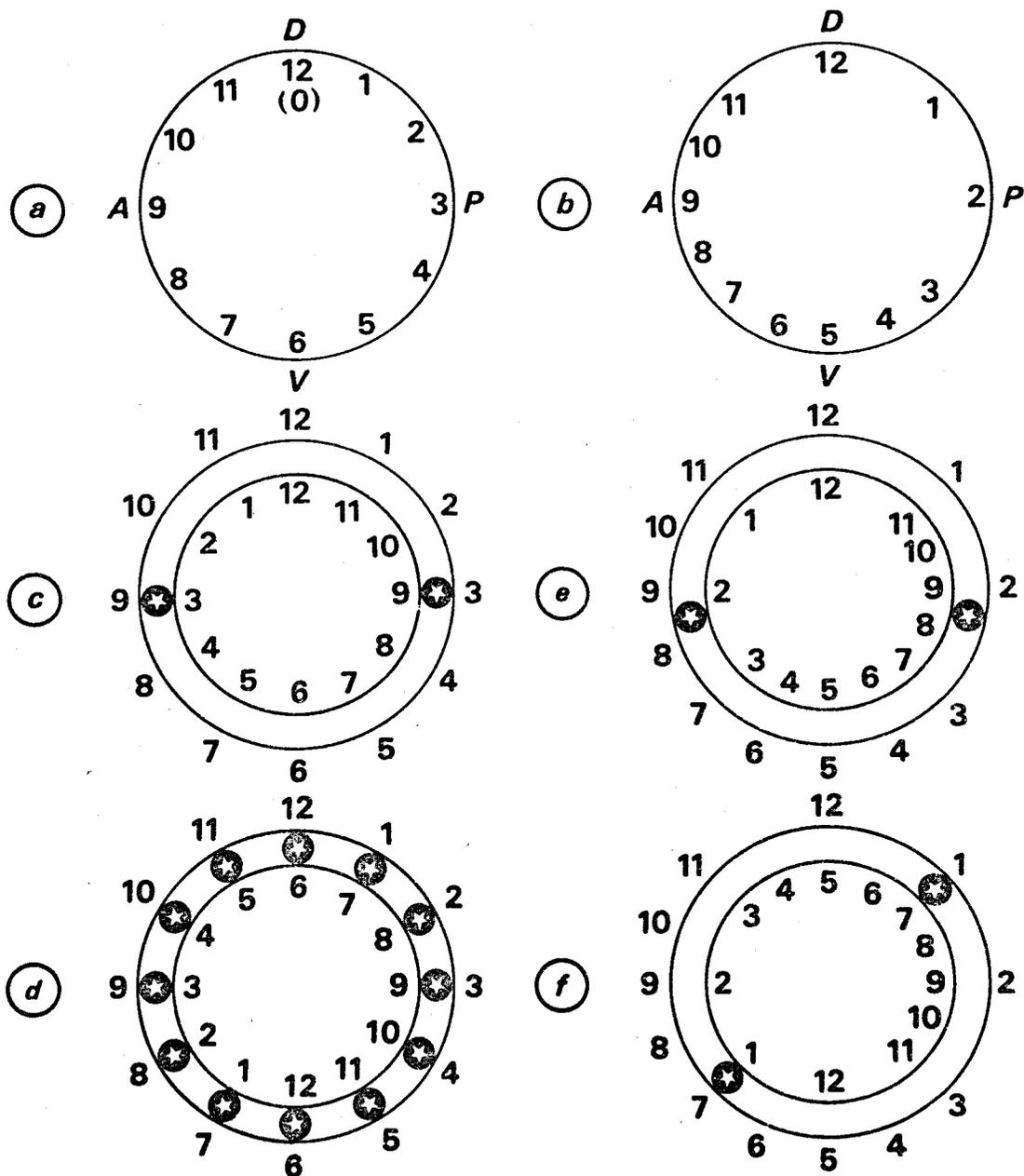


Fig. 17 - Répartition des valeurs de position à la périphérie du membre selon FRENCH *et al.* (1976).

a - Cas général.

b - Cas particulier au membre de *Notophthalmus viridescens*.

c et d - Centres de morphogenèse possibles en fonction du cas général que nous considérons comme étant le plus représentatif du membre de Pleurodèle.

c - Les axes *a-p* du greffon et du porte-greffe sont en opposition d'orientation (série 1). Comparer à la Fig. 13, b.

d - Rotation de 180 degrés du blastème de régénération et greffe homopleurale (série 3). Comparer à la fig. 16, b.

e et f - Centres de morphogenèse possibles selon BRYANT et ITEN (1976).

e - Série équivalente à notre série 1.

f - Série équivalente à notre série 3.

*Notophthalmus viridescens* BRYANT et ITEN admettent un espacement irrégulier dans la séquence des valeurs de position (Fig. 17 b). Chez *Pleurodeles waltlii*, les résultats des greffes homopleurales de blastèmes avec rotation de 180 degrés diffèrent de ceux obtenus sur *Notophthalmus viridescens* et nous préférons considérer que la séquence des valeurs de position est uniforme et dire que le contact de tissus de qualités opposées a lieu dans ce cas en tous points de la périphérie (Fig. 16, 17 d).

Nos résultats sont également en accord avec ceux obtenus sur les appendices d'Insectes (BODENSTEIN, 1937 ; BART, 1965, 1971 ; BOHN, 1965 ; BULLIERE, 1970 ; SHAW et BRYANT, 1975 ; FRENCH, 1976) et d'Araignées (LHEUREUX, 1970). La genèse de formations surnuméraires a également été induite chez d'autres Invertébrés par contact de tissus de faces opposées, en particulier chez les Crustacés (NOULIN, 1971), les Annélides (BOILLY-MARER, 1969) et les Planaires (SCHILT, 1970).

Des transplantations hétéropleurales de bourgeons embryonnaires de membres ont également produit des duplications et des triplifications dont les relations de symétrie entre les différents éléments obéissaient aux lois de BATESON (1894). De tels résultats ont été obtenus chez les Amphibiens (HARRISON, 1917, 1921 ; RUUD, 1926 ; STULTZ, 1936 ; SWEET, 1926, 1930) et les Oiseaux (SAUNDERS *et al.*, 1958 ; SAUNDERS et GASSELING, 1968). Des transplantations homopleurales de bourgeons de membres de Vertébrés après rotation de 180 degrés du greffon ont également donné naissance à des membres doubles ou triples. Ce sont les expériences de HARRISON (1917, 1921), RUUD (1926), SWEET (1926), STULTZ (1930), BLOUNT (1935) et CAMERON et FALLON (1974) chez les Amphibiens, de SAUNDERS *et al.* (1958) et AMPRINO et CAMOSSO (1959) chez les Oiseaux. Chez tous ces Vertébrés, des relations de symétrie entre les différentes parties de ces membres multiples sont conformes aux lois de BATESON-HARRISON à l'exception de rares cas obtenus chez les Amphibiens (HARRISON, 1921). Un seul cas de membre à trois mains et deux doigts surnuméraires obtenu par HARRISON (1921) témoigne de l'obtention de plus de deux mains surnuméraires.

HARRISON (1921) et SWEET (1926) reconnaissent l'importance de l'introduction d'une dysharmonie d'orientation des axes  $\alpha$ - $p$  ou  $d$ - $v$  dans le développement de membres surnuméraires. L'interprétation d'AMPRINO et CAMOSSO (1959) est assez voisine de celle d'HARRISON. Il faut noter que chez les Oiseaux, les membres surnuméraires apparaissent uniquement sur les bords  $\alpha$  et  $p$  du membre axial, la dysharmonie d'orientation entre les axes  $d$ - $v$  du greffon et du porte-greffe ne provoquant

pas le développement de telles formations (SAUNDERS *et al.*, 1958). Rappelons que ces auteurs admettent l'existence d'un "facteur de maintien" situé dans le mésenchyme de la région postérieure du bourgeon de membre et responsable de la mise en place des structures postérieures du membre. Quand on prélève une extrémité apicale de bourgeon de membre et qu'on la replace sur le moignon après une rotation de 180 degrés, le mésoderme postérieur se retrouve en position antérieure dans la calotte apicale greffée. Il y organiserait la formation d'un membre tandis que le mésoderme postérieur du moignon aurait le même rôle en position postérieure. Un membre double se constituerait suivant ce principe. L'existence d'un tel facteur était déjà pressentie par ZWILLING et HANSBOROUGH (1956). Cette idée a évolué dans le sens de l'existence d'un centre organisateur mésodermique qualifié de zone d'activité de polarisation (Zone of Polarizing Activity ou ZPA). Les résultats de nombreuses expériences de transplantation de cette zone réalisées chez les Oiseaux (SAUNDERS ET GASSELING, 1968 ; MAC CABE *et al.*, 1973 ; SUMMERBELL, 1974 ; FALLON et CROSBY, 1975 ; TICKLE *et al.*, 1975), les Mammifères (MAC CABE et PARKER, 1976) et les Batraciens (SLACK, 1977) ont conduit les auteurs à défendre cette hypothèse. La diffusibilité d'une substance à partir de la ZPA a été démontrée par MAC CABE et PARKER (1975).

Nos résultats ne nous permettent pas de confirmer ou d'infirmer cette hypothèse qui peut expliquer la mise en place de la polarité  $\alpha$ - $p$  du bourgeon de membre. On peut penser, qu'après détermination des polarités transversales, la genèse d'un centre morphogénétique surnuméraire est induite, selon notre hypothèse, par le contact de tissus de faces opposées. En effet, la production de membres surnuméraires dont l'examen ou l'analyse ont pu prouver le caractère de chimère, procédant à la fois du greffon et du moignon (BART, 1969 ; BOHN, 1972 ; nos propres résultats) montre l'existence d'une participation commune des tissus mis en contact à l'édification des néoformations. FRENCH (1976) admet aussi la collaboration plus ou moins équivalente des tissus associés, à l'édification d'une formation surnuméraire. Sans préjuger de l'obtention de membres surnuméraires formés uniquement à partir des tissus de la souche ou du greffon chez les Amphibiens, il faut rappeler que BOHN (1972) obtient à partir des mêmes expériences, tantôt des appendices chimères, tantôt des appendices de la nature du greffon ou de celle du moignon.

L'hypothèse de l'induction d'un centre morphogénétique surnuméraire par diffusion de substance chez l'embryon de Poulet ou d'Amphibien peut éventuellement expliquer l'apparition de membres doubles, mais il semble que notre hypothèse soit la seule, à ce jour, à pouvoir rendre compte de l'obtention de

membres triples après inversion de l'axe  $a-p$  du bourgeon d'aile (SAUNDERS *et al.*, 1958 ; AMPRINO et CAMOSSO, 1959).

## CONCLUSION

Des greffes de blastèmes de régénération homopleurales ou hétéropleurales ont été réalisées sur des moignons d'amputation du membre. Selon les cas, une ou plusieurs inversions d'orientation des axes  $d-v$  et  $a-p$  des blastèmes, par rapport à ceux des moignons, ont été introduites. Des membres surnuméraires se sont formés au contact des tissus de faces opposées du moignon et du blastème. Le nombre, la localisation et l'orientation de ces membres sont conditionnés par les qualités des tissus mis en contact lors de l'opération. L'analyse des cellules constituant les membres surnuméraires développés à la suite de la greffe d'un blastème triploïde sur un moignon diploïde conduit à la conclusion d'une double participation du blastème et du moignon à l'édification de tels membres. L'ensemble de ces résultats montre l'importance des contacts de tissus de faces opposées dans la mise en place d'un centre morphogénétique surnuméraire.

La régénération d'un membre à partir d'un moignon d'amputation peut s'expliquer par l'hypothèse que nous avons proposée pour la formation des membres surnuméraires. En effet, dans un blastème de régénération, tous les tissus de faces opposées se trouvent harmonieusement associés, ce qui implique la création d'un centre morphogénétique axial.

Nous nous proposons d'altérer cette harmonie en modifiant les positions relatives de certains tissus du moignon en réalisant des contacts localisés entre la peau et la musculature sous-jacente, afin de savoir s'ils peuvent être à l'origine de centres morphogénétiques surnuméraires.

## CHAPITRE II

### MORPHOGENESES SURNUMERAIRES PROVOQUEES PAR LE CONTACT DE TISSUS DIFFERENCIES DE QUALITES OPPOSEES AU NIVEAU D'UN MOIGNON D'AMPUTATION

Les expériences que nous avons réalisées à ce sujet sont relativement nombreuses, mais les résultats bien que variés peuvent être présentés et discutés de façon globale, c'est pourquoi nous présenterons en premier lieu l'ensemble des expériences avant d'en donner les résultats, qui seront discutés dans une troisième partie. La majeure partie de ces expériences ont fait l'objet de publications (LHEUREUX, 1972, 1975 a, 1976).

#### I - PRESENTATION DES EXPERIENCES

Les expériences réalisent des contacts entre peau et tissus musculaires sous-cutanés encore appelés tissus internes ou tissus axiaux. Elles sont présentées en quatre ensembles ; les trois premiers concernent des contacts entre tissus de faces opposées localisés en un point, en deux points opposés ou en tous points de la périphérie du moignon d'amputation, et le quatrième correspond à des greffes de tissus prélevés sur le flanc du triton.

A - CONTACT DE TISSUS DE FACES OPPOSÉES, EN UN POINT DE LA PÉRIPHÉRIE DU MOIGNON D'AMPUTATION

Les tissus greffés sont de la peau ou de la musculature de membre. Dans le cas de transplantation de fragments musculaires l'orientation proximo-distale des greffons est conservée et donc conforme à celle du moignon porte-greffe. Les lambeaux de peau greffée ont une orientation proximale conforme à celle du membre receveur ou située à 90 degrés par rapport à celle du membre receveur.

1 - ORIENTATION PROXIMO-DISTALE DES GREFFONS CONFORME A CELLE DES MEMBRES PORTE-GREFFE : SERIES 5 A 10 (Tableau 3)

On réalise des greffes de secteurs de peau en remplacement des secteurs opposés du membre hétéropleural ou des greffes de fragments de muscle de membre sous la peau de la face opposée du membre hétéropleural, la musculature du membre receveur, ne faisant pas l'objet d'ablation.

Les secteurs de peau greffée correspondent au quart de la périphérie du moignon d'amputation. Dans les séries 5, 6, 7 et 8 les fragments de peau sont prélevés respectivement sur les faces *d*, *v*, *a* et *p* de l'avant-bras, et greffés respectivement sur la musculature des faces *v*, *d*, *p* et *a* du membre contralatéral. La Fig. 18 illustre la procédure expérimentale des séries 5 et 6.

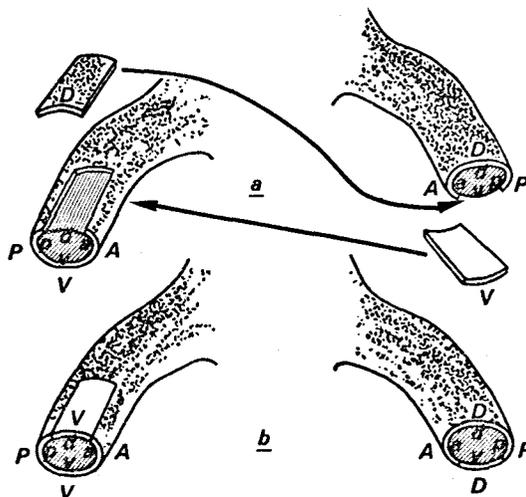


Fig. 18 - Greffes sur l'avant-bras, de secteurs de peau dorsal et ventral, en place des secteurs opposés correspondants (séries 5 et 6).  
a : échanges ; b : membres greffés.

Les fragments de muscle sont prélevés dans la masse musculaire dorsale dans la série 9 et sont greffés sous la peau ventrale du bras contralatéral alors que dans la série 10 c'est le muscle ventral qui est greffé en position hétéropleurale sous la peau dorsale du bras au niveau du moignon d'amputation.

2 - ORIENTATION PROXIMO-DISTALE DES GREFFONS SITUEE A 90 DEGRES PAR RAPPORT A CELLE DES MEMBRES PORTE-GREFFE : SERIES 11 A 14 (Tableau 3)

Une bande de peau est prélevée sur une face du membre suivant une direction proximo-distale. Elle est greffée en manchon autour du moignon de bras dont la peau a été préalablement ôtée. Les tissus axiaux du moignon sont donc recouverts de peau d'une seule qualité et dont l'axe proximo-distal est situé à 90 degrés par rapport à celui du membre receveur (Fig. 19).

Dans les séries 11, 12, 13, 14, on greffe des bandes de peau respectivement de qualité *d*, *v*, *a* et *p*.

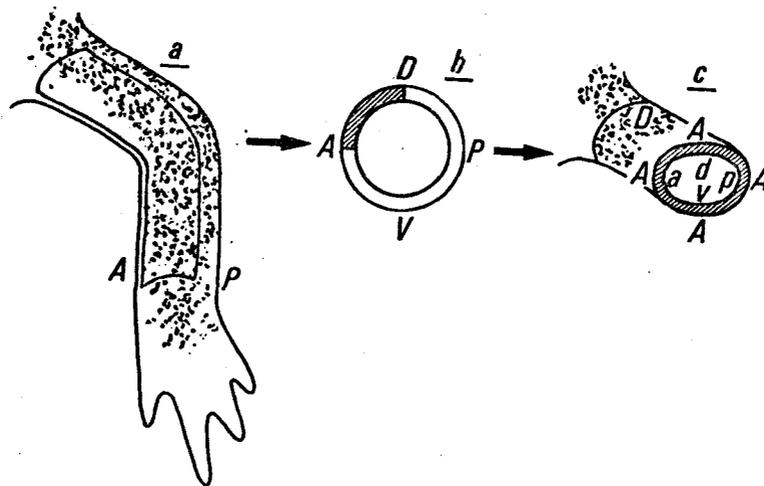


Fig. 19 - Greffe d'une bande de peau antéro-dorsale en manchon autour d'un moignon dont la peau a été ôtée. La qualité antérieure est située sur la surface d'amputation (série 13).

B - CONTACTS ENTRE TISSUS DE FACES OPPOSÉES, EN DEUX POINTS DE LA PERIPHERIE DU MOIGNON D'AMPUTATION

Les tissus greffés consistent en peau ou en derme, disposés en manchon, en remplacement de la peau du moignon d'amputation, ou encore en fragments de muscles de bras glissés sous la peau du moignon.

Tableau 3 - Procédures expérimentales des séries 5 à 14 (Une zone de contact hétérogène)

Séries	Greffon	Qualité	Côté de greffe	Polarité Prox-di. Greffon	Zone de contact hétérogène	Surface d'amputation
5	Secteur de peau	<i>d</i>	hétéropl.	inchangée	<i>v</i>	
6	Secteur de peau	<i>v</i>	hétéropl.	inchangée	<i>d</i>	
7	Secteur de peau	<i>a</i>	hétéropl.	inchangée	<i>p</i>	
8	Secteur de peau	<i>p</i>	hétéropl.	inchangée	<i>a</i>	
9	muscle	<i>d</i>	hétéropl.	inchangée	<i>v</i>	
10	muscle	<i>v</i>	hétéropl.	inchangée	<i>d</i>	
11	bande de peau	<i>d</i>	hétéropl.	rotation 90°	<i>v</i>	
12	bande de peau	<i>v</i>	hétéropl.	rotation 90°	<i>d</i>	
13	bande de peau	<i>a</i>	hétéropl.	rotation 90°	<i>p</i>	
14	bande de peau	<i>p</i>	hétéropl.	rotation 90°	<i>a</i>	

1 - GREFFE DE PEAU : SERIES 15 A 20 (Tableau 4)

Un manchon de peau de bras est détaché des tissus sous-jacents, retiré comme un anneau du membre donneur, puis greffé autour du bras receveur. L'amputation est faite le lendemain à travers la partie la plus distale du greffon. La greffe est hétéropleurale dans les séries 15 et 16. La polarité proximo-distale de l'anneau de peau étant inchangée, on réalise soit une inversion d'orientation *d-v* (série 15), soit une inversion d'orientation *a-p* (série 16) de la peau greffée par rapport aux tissus internes. Les opérations des séries 17 et 18 sont homopleurales avec inversion d'orientation de l'axe proximo-distal. La peau greffée a son axe *d-v* (série 17) ou *a-p* (série 18) en opposition d'orientation par rapport à ceux des tissus axiaux. La série 19 est une série témoin : le manchon de peau détaché d'un bras est replacé sans modification d'orientation des axes. La série 20 consiste à greffer deux bandes de peau de qualités dorsale et ventrale après avoir fait pivoter leur axe proximo-distal de 90 degrés. La bande de peau dorsale constitue un demi-manchon ventral et la bande de peau ventrale un demi-manchon dorsal.

2 - GREFFE DE DERME : SERIES 21 ET 22 (Tableau 4).

Il est facile d'enlever l'épiderme d'un manchon de peau qui a été soumis à l'action de l'EDTA pendant une demi-heure. Le manchon de derme ainsi obtenu est greffé de la même façon que la peau. L'épiderme avoisinant recouvre le greffon et l'amputation du bras est faite trois jours après la greffe. On réalise une inversion d'orientation *d-v* (série 21) ou *a-p* (série 22) du derme par rapport aux tissus axiaux.

3 - GREFFE DE MUSCLE : SERIES 23 ET 24 (Tableau 4)

La série 23 correspond à la greffe de fragments de muscle de bras, l'un de qualité dorsale est glissé sous la peau ventrale et l'autre, de qualité ventrale, est glissé sous la peau dorsale du moignon. La série témoin 24 est réalisée en greffant les fragments dorsal et ventral de muscle sous la peau des faces respectivement dorsale et ventrale du moignon.



Tableau 4 - Procédures expérimentales des séries 15 à 24 (Deux zones de contact hétérogène)

Séries	Greffon	Qualités	Côté de greffe	Polarité Prox-Di. Greffon	Zone de contact hétérogène	Surface d'amputation
15	manchon de peau	toutes	hétéropl.	inchangée	<i>d</i> et <i>v</i>	
16	manchon de peau	toutes	hétéropl.	inchangée	<i>a</i> et <i>p</i>	
17	manchon de peau	toutes	homopl.	inversée	<i>d</i> et <i>v</i>	
18	manchon de peau	toutes	homopl.	inversée	<i>a</i> et <i>p</i>	
19	manchon de peau	toutes	homopl.	inchangée	-	
20	2 bandes de peau	<i>d</i> et <i>v</i>	hétéropl.	rotation de 90°	<i>d</i> et <i>v</i>	
21	manchon de derme	toutes	hétéropl.	inchangée	<i>d</i> et <i>v</i>	
22	manchon de derme	toutes	hétéropl.	inchangée	<i>a</i> et <i>p</i>	
23	muscle <i>d</i> + muscle <i>v</i>	<i>d</i> et <i>v</i>	hétéropl.	inchangée	<i>d</i> et <i>v</i>	
24	muscle <i>d</i> + muscle <i>v</i>	<i>d</i> et <i>v</i>	hétéropl.	inchangée	-	

## C - CONTACTS ENTRE TISSUS DE FACES OPPOSÉES SUR TOUTE LA PÉRIPHÉRIE DU MOIGNON D'AMPUTATION

Les seuls tissus qui nous aient permis de réaliser un grand nombre de zones de contacts de tissus de qualités opposées sont la peau et le derme.

### 1 - GREFFE DE PEAU : SERIES 25 A 28 (Tableau 5)

Série 25 - Un manchon de peau, détaché des tissus sous-jacents pivote de 180 degrés autour de l'axe proximo-distal du bras, comme une bague autour du doigt ; ainsi chaque qualité de la peau greffée entre en contact avec des tissus axiaux de qualité opposée.

Série 26 - L'inversion d'orientation de tous les axes transverses de la peau par rapport à ceux des tissus axiaux est réalisée comme dans la série 25, mais on inverse également l'orientation proximo-distale du greffon. Pour ce faire, la greffe doit être hétéropleurale.

Série 27 - On greffe, en position hétéropleurale, un manchon de peau en inversant uniquement son axe proximo-distal. Les axes transverses *a-p* et *d-v* de la peau et des tissus axiaux, ont même orientation.

Série 28 - La greffe est réalisée comme dans la série 25, mais l'amputation est faite un peu distalement par rapport au greffon de sorte qu'un liseré de peau du membre receveur sépare la peau greffée de la surface d'amputation.

### 2 - GREFFE DE DERME : SERIE 29 (Tableau 5)

La série 29 est réalisée comme la série 25 mais le derme y remplace la peau greffée.

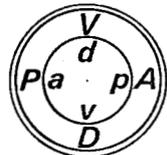
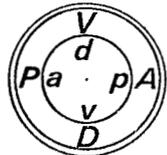
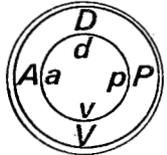
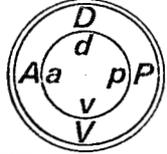
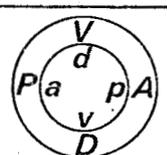
## D - GREFFE DE TISSUS DE FLANC

De la peau de flanc ou du muscle somitique ont été greffés sur le moignon d'amputation du membre afin de rechercher s'ils sont ou non morphogénétiquement neutres.

### 1 - GREFFE DE PEAU DE FLANC : SERIE 30

Une bande latéro-dorsale de peau de flanc est disposée en manchon autour du bras préalablement dénudé. L'amputation passe à travers le bord distal du greffon.

Tableau 5 - Procédures expérimentales des séries 25 à 29 (Contacts hétérogènes en tous points)

Séries	Greffon	Qualité	Côté de greffe	Polarité Prox-di. Greffon	Zones de contact hétérogène	Surface d'amputation
25	manchon de peau	toutes	homopl.	inchangée	toute la périphérie	
26	manchon de peau	toutes	hétéropl.	inversée	toute la périphérie	
27	manchon de peau	toutes	hétéropl.	inversée	-	
28	manchon de peau	toutes	homopl.	inchangée	-	
29	manchon de derme	toutes	homopl.	inchangée	toute la périphérie	

2 - GREFFE DE MUSCLE DE FLANC : SERIE 31

Des fragments de muscles somitiques provenant du flanc droit sont greffés sous la peau ventrale de membres droits et de membres gauches. Vingt-quatre heures plus tard ces membres sont amputés à travers le greffon.

II - RESULTATS

Nous allons examiner les résultats des séries d'expériences qui viennent d'être présentées en fonction du nombre de contacts entre tissus de faces opposées à la périphérie du moignon d'amputation, autrement dit nous classerons les résultats comme l'ont été les séries d'expériences.



## A - CONTACTS ENTRE TISSUS DE FACES OPPOSÉES EN UNE ZONE DE LA PÉRIPHÉRIE DU MOIGNON D'AMPUTATION

Les membres régénérés sont soit simples, soit hypomorphes, soit porteurs de formations surnuméraires.

### 1 - MEMBRES SIMPLÉS

Tous les membres régénérés simples ont un degré de développement et une latéralité correspondant à ceux de membres normaux, non opérés (Pl. II, a).

### 2 - MEMBRES NON REGENERES ET MEMBRES HYPOMORPHES (Tableau 6)

Un pourcentage moyen de 22 % de membres non régénérés ou hypomorphes est observé dans l'ensemble des séries 11 à 14 (Pl. II, b). La fig. 23 présente divers degrés de développement déficient des régénérats allant de l'arrêt de développement au niveau du stylopede jusqu'à l'arrêt de développement au niveau du carpe.

### 3 - MEMBRES A FORMATIONS SURNUMERAIRES

Nous examinerons successivement leur fréquence d'apparition, la localisation des formations surnuméraires, le degré de développement des membres régénérés et l'orientation des formations surnuméraires.

#### a) Fréquence (Tableau 6)

Le tableau 6 montre que pour chaque ensemble (séries 5 à 8, séries 9 et 10 et séries 11 à 14) la proportion globale de membres à formations surnuméraires est voisine de 30 %. Dans le détail on s'aperçoit qu'un contact hétérogène sur la face antérieure (peau greffée de qualité postérieure) permet la régénération d'un fort pourcentage de membres à formations surnuméraires (séries 8 et 14), mais surtout qu'un contact hétérogène au niveau de la face dorsale du moignon n'engendre que de rares membres à formations surnuméraires (séries 6, 10 et 12), que le greffon soit de la peau ventrale ou du muscle ventral.

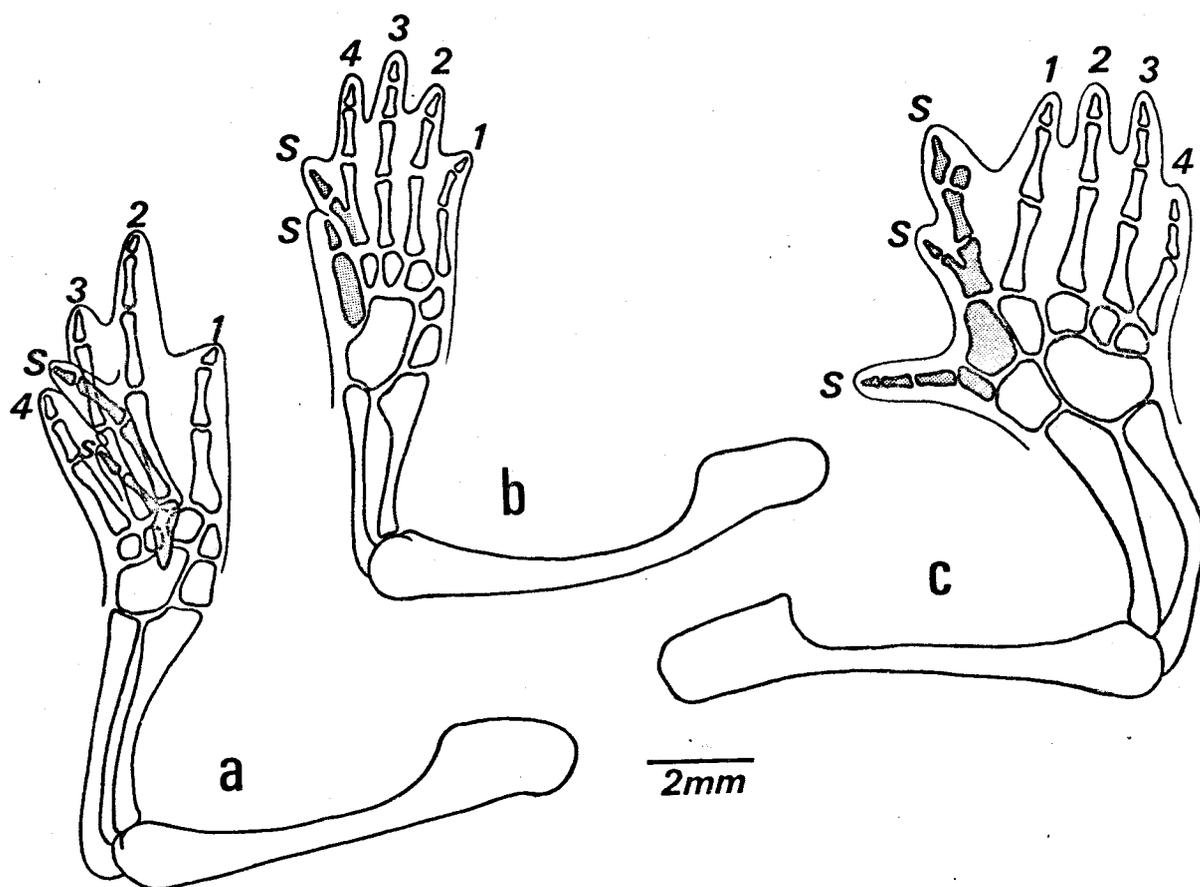


Fig. 20 - Squelettes obtenus après création d'une dysharmonie par greffe de secteur de peau ; les formations surnuméraires sont en grisé.

- a - dysharmonie ventrale sur membre droit ; vue ventrale ; deux doigts surnuméraires.
- b - dysharmonie postérieure sur membre gauche ; vue dorsale ; deux doigts surnuméraires.
- c - dysharmonie antérieure sur membre droit ; vue dorsale ; trois doigts surnuméraires.

b) Localisation

Avant de présenter les résultats relatifs à la localisation des formations surnuméraires il nous faut définir le membre axial par rapport auquel seront localisées ces formations surnuméraires et mentionner les difficultés qui pourront apparaître pour distinguer le membre axial des formations surnuméraires.

- Remarques sur la définition du membre axial

Nous avons, dans le premier chapitre, défini le membre axial comme celui qui est issu du développement du blastème greffé. Dans les circonstances expérimentales présentées dans ce chapitre, tous les éléments régénérés se développent à partir d'une même surface d'amputation. Le terme de membre axial peut encore être utilisé et correspondre à celui issu du développement du moignon, indépendamment de l'existence des tissus greffés. Il est représenté par un membre bien développé et normalement orienté. Toutefois, deux ambiguïtés peuvent apparaître.

(1) Une partie plus ou moins importante des tissus du moignon est utilisée à la constitution des formations surnuméraires. A la limite, si de nombreuses formations surnuméraires se développaient, le membre axial pourrait peut-être ne pas se développer. (2) A la suite d'une greffe de manchon de peau dont les axes transverses ne concordent pas avec ceux des tissus axiaux du moignon porte-greffe, des membres régénérés simples peuvent être orientés comme la peau greffée et non comme les tissus axiaux du moignon (voir les résultats des séries 17, 18, 20, 25 et 26). On peut supposer que cette situation peut aussi exister dans un membre multiple.

Ces deux remarques sont à prendre en considération principalement lorsque se développent des membres complexes et lorsque les greffons consistent en manchons de peau.

- Localisation (Tableau 6)

Le membre axial est facilement identifié dans ces 10 séries d'expériences. Par suite les formations surnuméraires peuvent être aisément localisées par rapport à lui. Les résultats des séries 5 à 8 montrent que la localisation des formations surnuméraires correspond à celle des contacts entre tissus de faces opposées (Pl. II, c, d, e, f, i). Cette correspondance montre des exceptions surtout dans les séries 13 et 14 (Pl. II, h).

Tableau 6 - Régénération de membres amputés sur les moignons desquels ont été réalisés des contacts entre tissus de faces opposées, localisés en une zone (séries 5 à 14).

Séries		Nb de cas	morphogenèses régénératrices			Localisation des formations surnuméraires						
			Pas de régénér. ou membre hypomorphe	membres simples	membres à formations surnumér.	d	v	a	p	plan a-p	indét.	
5		48		37 (73 %)	13 (27 %)		13					
6		49		46 (94 %)	3 (6 %)	3						
7		48		32 (66 %)	16 (33 %)				14		2	
8		46		16 (35 %)	30 (65 %)			27			3	
Total		191		129 (68 %)	62 (32 %)							
9		32		13 (41 %)	19 (59 %)		12	7				
10		32		31 (97 %)	1 (3 %)	1						
Total		64		44 (69 %)	20 (31 %)							
11		86	19 (22 %)	43 (50 %)	24 (28 %)		14	2	1	4	3	
12		59	3 (5 %)	52 (88 %)	4 (7 %)			1		3		
13		82	33 (40 %)	35 (42 %)	15 (18 %)	3	6		2	2	2	
14		70	10 (14 %)	26 (35 %)	34 (49 %)	3	10	16		4	1	
Total		297	65 (22 %)	155 (52 %)	77 (26 %)							

BUS LILLE

c) Degré de développement

Les formations surnuméraires rencontrées dans les séries 5 à 8 sont faiblement développées (Pl. II, c, d, e). Parmi les 50 squelettes de membres à formations surnuméraires analysés dans l'ensemble de ces 4 séries, 43 présentent un ou deux doigts surnuméraires (Fig. 20) et 7 montrent trois ou quatre doigts surnuméraires, mais aucun d'entre eux ne possède plus de deux os zeugopodiaux. Il faut toutefois rappeler que l'amputation du membre a été faite à travers l'avant-bras dans ces 4 séries d'expériences.

Dans les séries 9 et 10 relatives aux greffes de muscles, les formations surnuméraires sont plus développées (Pl. II, h, i). Sur les 18 squelettes étudiés, 8 présentent un ou deux doigts surnuméraires et 10 en présentent 3 ou 4. De plus parmi ces 18 squelettes, 8 ont un zeugopode à 3 os (Fig. 21, a, b).

Enfin, lorsque des bandes de peau sont greffées en manchon autour du moignon (séries 11 à 14), des formations surnuméraires à un ou deux doigts peuvent être observées (Pl. II, f). Le squelette de tels membres (Pl. II, g) montre que la duplication n'affecte que l'extrémité autopodiale. Cependant dans la série 14, les membres à formations surnuméraires sont mieux développés et 10 d'entre eux présentent un zeugopode à trois os (Fig. 22).

d) Orientation

Le faible degré de développement des formations surnuméraires dans les séries d'expériences relatives aux greffes de secteurs de peau (séries 5 à 8) ne permet guère d'établir de relations de symétrie entre le régénérat axial et ces formations surnuméraires. Toutefois quelques membres régénérés de la série 8 montrent une duplication de l'autopode, la main surnuméraire étant l'image en miroir de la main du membre axial.

Les membres à formations surnuméraires de la série 9 correspondant à la greffe de muscle dorsal sous la peau ventrale sont suffisamment développés pour qu'on puisse étudier l'orientation de leurs différents éléments. La main ou la partie de main surnuméraire peut être l'image en miroir de la main axiale (Pl. II, h, i ; Fig. 21, b, e) autrement dit, formation axiale et formation surnuméraire sont de latéralités opposées, mais on observe fréquemment des mains doubles dont les relations de symétrie n'obéissent pas aux lois de BATESON-HARRISON.

Par contre les quelques cas de mains doubles de la série 14 montrent une symétrie par rapport à un plan (Fig. 22, c)

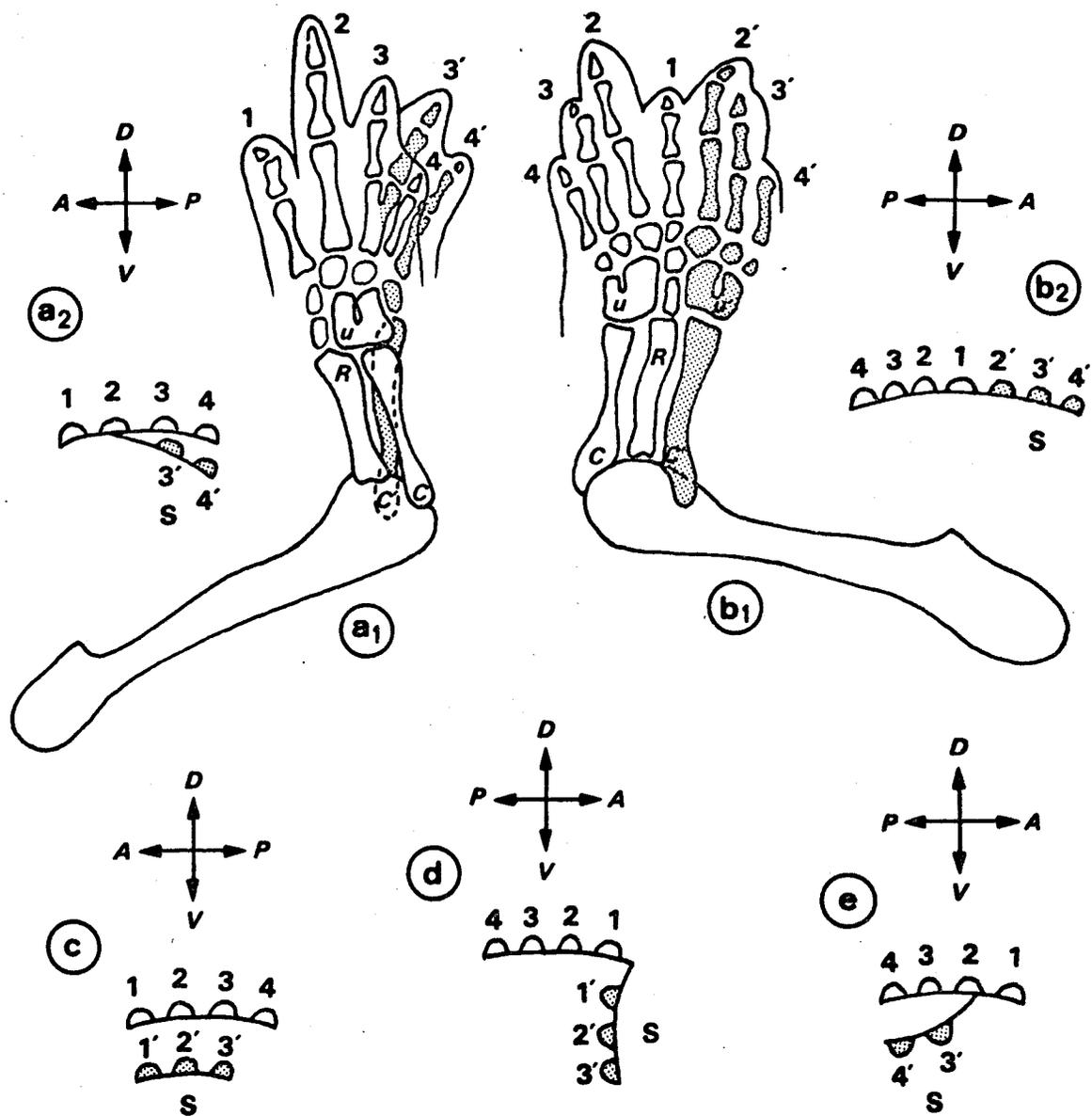


Fig. 21 - Membres à formations surnuméraires (S) après greffe de muscle dorsal sous la peau ventrale du bras (série 9). Les éléments surnuméraires sont en grisé.

C, C' : cubitus ; R : radius ; u, u' : ulnaire ou cubital.

- a<sub>1</sub> - Squelette d'un membre droit présentant un dédoublement ventral sur le bord postérieur affectant le zeugopode et l'autopode.
- b<sub>1</sub> - Squelette d'un membre gauche dont le zeugopode et l'autopode sont dédoubleés. Les deux membres, axial et surnuméraire, sont symétriques par rapport à un plan et ont en commun la partie antérieure.
- a<sub>2</sub>, b<sub>2</sub>, c, d, e - Représentation schématique de la position et de l'orientation relatives des membres à formations surnuméraires au niveau des doigts. Chaque demi-cercle représente un doigt dont la face dorsale correspond à l'arc.

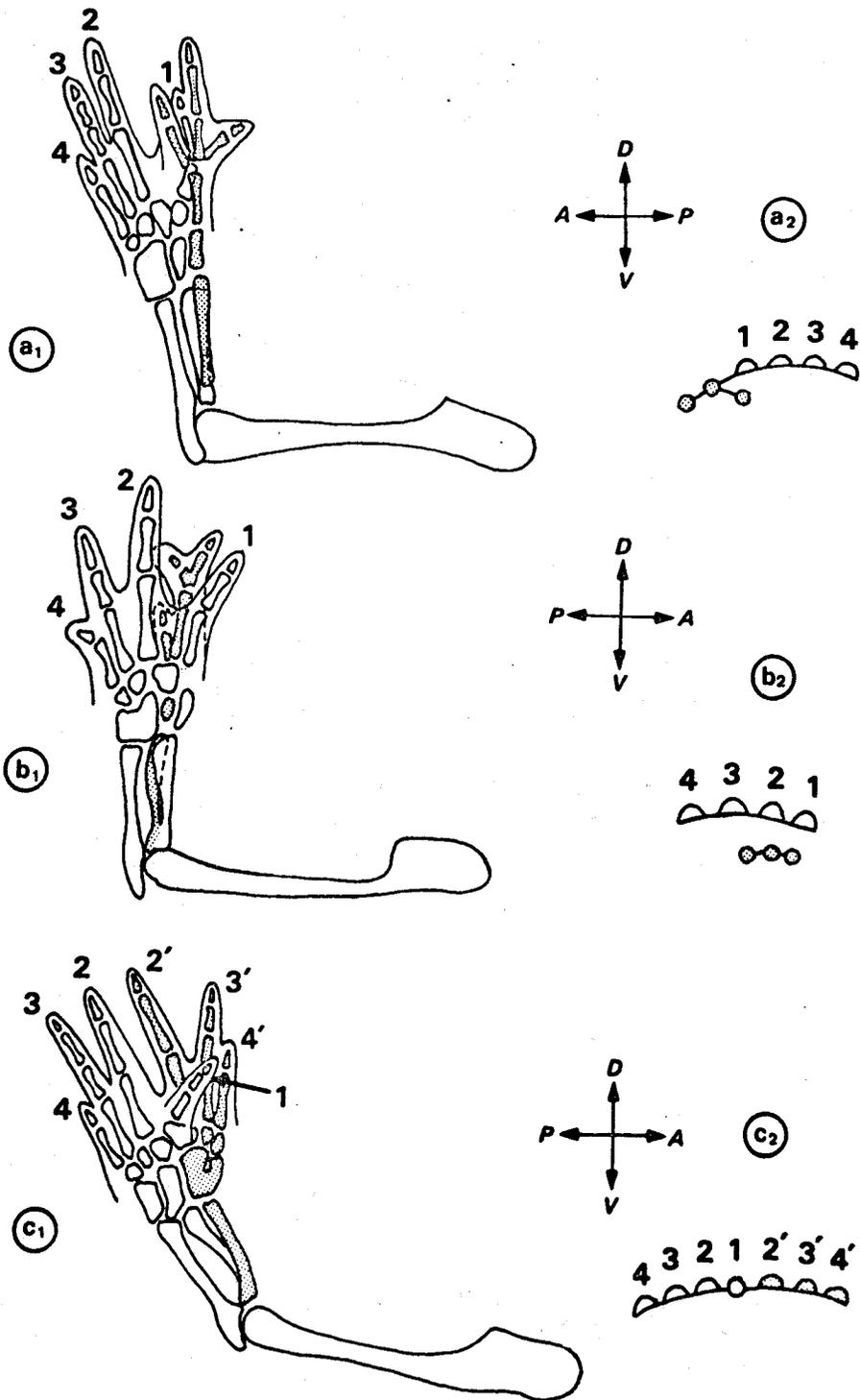


Fig. 22 - Duplications antérieures ou antéroventrales de membres de la série 14.

a<sub>1</sub> - Vue ventrale d'un membre droit.

b<sub>1</sub> - Vue dorsale d'un membre gauche.

c<sub>1</sub> - Vue dorsale d'un membre gauche où les deux mains sont images en miroir l'une de l'autre, le doigt 1 étant commun aux deux mains.

a<sub>2</sub>, b<sub>2</sub>, c<sub>2</sub> - Représentation schématique de la position et de l'orientation relatives des membres au niveau des doigts. Un demi-cercle représente un doigt dont la face dorsale correspond à l'arc. Un cercle représente un doigt dont on n'a pas pu déterminer l'orientation *d-v*.

B - CONTACTS ENTRE TISSUS DE FACES OPPOSÉES EN DEUX ZONES  
DE LA PÉRIPHÉRIE DU MOIGNON D'AMPUTATION

Si l'on excepte 6 cas de régénération hypomorphe dans la série 18, les membres régénérés sont simples ou présentent des formations surnuméraires.

1 - MEMBRES RÉGÉNÉRÉS DES SÉRIES TÉMOINS 19 ET 24

Les membres opérés-témoins régénèrent leur partie amputée sous la forme de membres simples sauf dans un cas sur 92 (tableau 7) où la main présente un doigt surnuméraire sur son bord antérieur.

2 - MEMBRES SIMPLÉS

En général, le greffon n'a pas altéré la régénération normale du membre mais dans 7 cas (série 17 : 1 cas ; série 18 : 3 cas ; série 20 : 3 cas) on note un changement de latéralité du membre, par exemple dans la série 20, l'orientation *a-p* du régénérat est conforme à celle du moignon mais l'orientation *d-v* ne l'est pas (Pl. III, d).

3 - MEMBRES NON RÉGÉNÉRÉS ET MEMBRES HYPOMORPHES

Parfois la régénération semble s'être interrompue avant que la différenciation du membre soit complète (série 18 : 6 cas ; Pl. III, b, c). Dans 4 cas le zeugopode et l'autopode ne sont pas formés et dans 2 cas un os du zeugopode et quelques petits os ont été mis en place (Fig. 23).

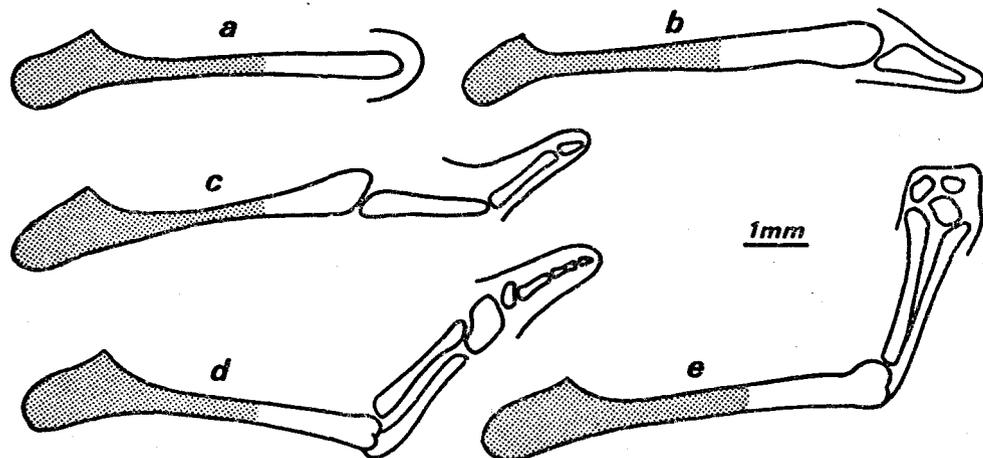


Fig. 23 - Divers degrés de déficience de la régénération d'un membre après greffe d'un manchon de qualité dorsale (série 11). a - la régénération distale de l'humérus est incomplète ; b - Un petit os apparaît à l'extrémité distale régénérée de l'humérus. c - Trois os allongés articulés entre eux forment une sorte de doigt. d - Le zeugopode régénéré est complet mais la main est réduite à un doigt. e - La régénération est arrêtée au niveau du carpe.

#### 4 - MEMBRES A FORMATIONS SURNUMÉRAIRES

##### a) Fréquence (Tableau 7).

Le pourcentage moyen de membres à formations surnuméraires est de 39 % après greffe de peau créant deux points de contact entre tissus de faces opposées. Il est supérieur aux taux d'obtention de membres à formations surnuméraires après greffe d'un secteur de peau (32 %) ou d'une bande de peau (26 %) réalisant un seul contact entre tissus de faces opposées.

Après greffe de muscle, la fréquence d'apparition de membres surnuméraires est de 60 % ce qui est supérieur à ce que nous observons après greffe de peau. Cette fréquence est voisine de celle que nous avons obtenue en ne greffant que du muscle dorsal sous la peau ventrale (série 9).

Enfin, quand le greffon est constitué de derme, le pourcentage de membres à formations surnuméraires est très faible.

##### b) Localisation (Tableau 7)

Les formations surnuméraires s'observent surtout sur les faces dorsale et ventrale du membre axial dans les séries 15, 17, 20 et 21 (Pl. II, j, k ; III, h ; Fig. 24, b, c) et surtout sur les faces antérieure et postérieure dans les séries 16, 18 et 22 (Fig. 25, b). Enfin, dans la série 23, où le greffon est constitué de muscle, les formations surnuméraires n'ont pas de localisation préférentielle.

##### c) Degré de développement des formations surnuméraires

D'une façon générale nous observons des différences de développement des formations surnuméraires principalement en fonction de la nature des tissus greffés.

Parmi les 45 membres à formations surnuméraires des séries 15 à 18, 32 ne présentent qu'un ou deux doigts surnuméraires (Pl. II, j, k ; Fig. 24, b) tandis que les 13 autres sont constitués d'un ensemble de 7 à 9 doigts (Pl. II, l ; III, a). L'examen du squelette permet parfois d'y reconnaître une double main (Fig. 24, a). Malheureusement tous les squelettes n'ont pas pu être analysés, 18 d'entre eux ayant été détruits à la suite d'un séjour trop prolongé dans l'eau oxygénée. Parmi les 27 squelettes qui ont pu être étudiés, 4 seulement présentaient un zeugopode à 3 os (Fig. 24, a). Dans la série 20 où deux bandes de peau dorsale et ventrale sont greffées en manchon sur le moignon, le degré de développement des régénérats est beaucoup plus important que dans les séries



Tableau 7 - Régénération de membres amputés sur les moignons desquels ont été réalisés des contacts entre tissus de faces opposées, localisés en deux points de la périphérie du moignon d'amputation (séries 15 à 24).

Séries	Diagramme	Nb de cas	Morphogenèses régénératrices			Localisation des formations surnuméraires							
			Régénération hypomorphe	membres simples	membres à formations surnumér.	d	v	a	p	a + p	d + v	2 faces non opposées	indét.
15		43		23 (54 %)	20 (46 %)	4	12	2		1	1		
16		40		24 (60 %)	16 (40 %)	1	4	7	3				1
17		18		11 (62 %)	7 (38 %)	2	3	1		1			
18		20	6 (30 %)	12 (60 %)	2 (10 %)		1			1			
19		92		91 (99 %)	1 (1 %)								
20		27		14 (52 %)	13 (48 %)		4	1	1	1		3	3
Total des opérés		148	6 (4 %)	84 (57 %)	58 (39 %)								
21		39		37 (95 %)	2 (5 %)		1					1	
22		35		31 (89 %)	4 (11 %)			4					
Total		74		68 (92 %)	6 (8 %)								
23		25		10 (40 %)	15 (60 %)	2	5	4		3			1
24		30		30 (100%)									

précédentes. Dans 6 cas sur 13, les formations surnuméraires sont réduites à un ou deux doigts. Dans 5 cas sur 13, il existe deux formations surnuméraires. Chacune d'elle étant constituée d'un doigt, de deux doigts ou d'une main (Fig. 24, c). Les deux derniers cas sont des membres très complexes à plus de 3 mains (Fig. 24, d). Signalons enfin que 10 des 13 membres à formations surnuméraires montrent la présence d'un zeugopode à plus de deux os (Fig. 24, c).

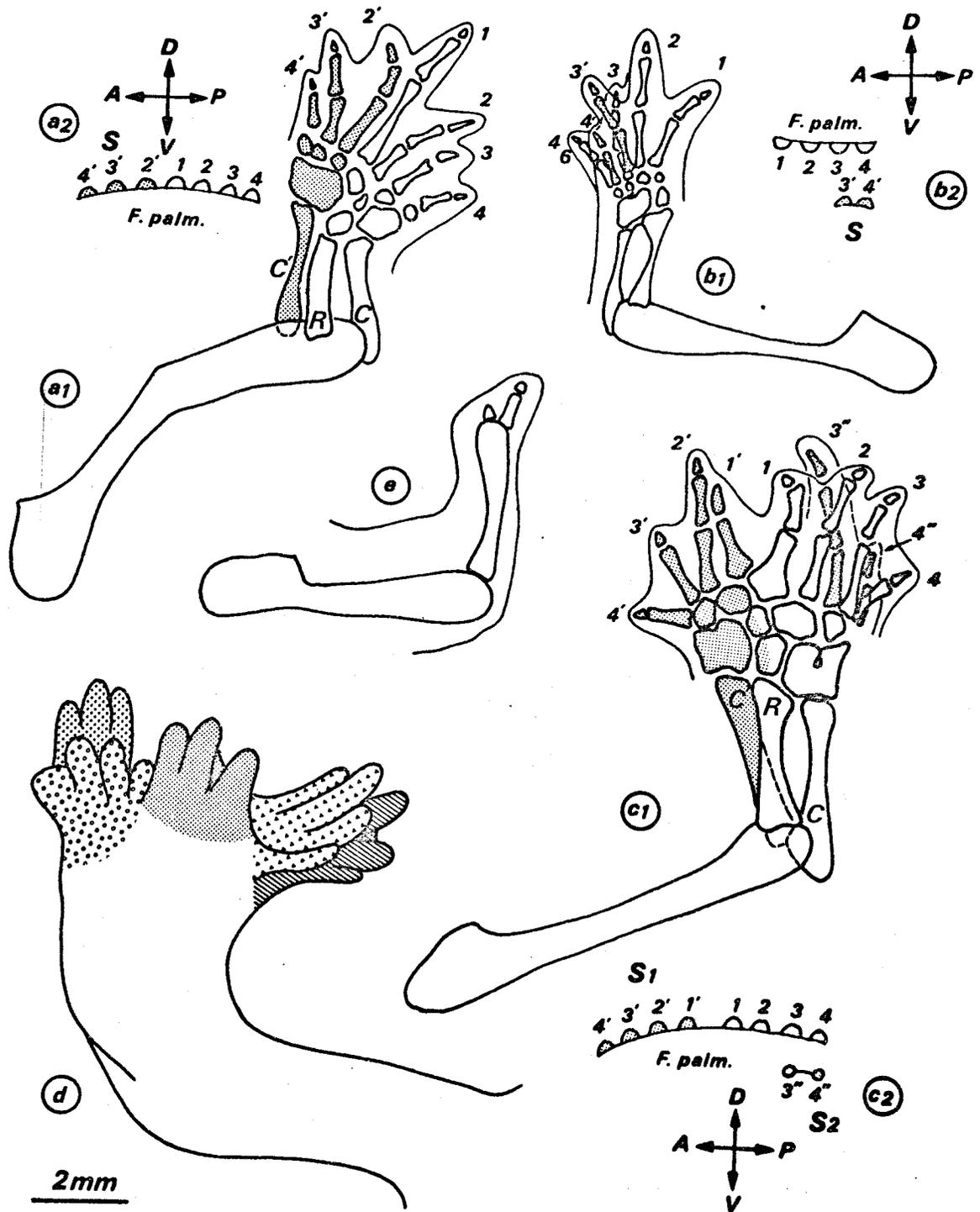
Fig. 24 - Régénération de membres sur le moignon desquels a été greffée de la peau, créant deux points de contact entre tissus de faces opposées (séries 15 à 20).

C : cubitus ; R : radius ; S : formation surnuméraire.

- a<sub>1</sub> - Vue dorsale du squelette d'un membre droit de la série 17. Le membre surnuméraire en position antérieure est symétrique du membre axial par rapport à un plan et il possède radius et doigt 1 en commun avec lui.
- b<sub>1</sub> - Vue ventrale du squelette d'un membre droit de la série 17, montrant deux doigts surnuméraires ventraux. Le membre axial a la latéralité d'un membre gauche (voir schéma b<sub>2</sub>).
- c<sub>1</sub> - Vue dorsale du squelette d'un membre droit de la série 20 où l'on peut voir une main surnuméraire antérieure symétrique du membre axial par rapport à un plan, et deux doigts surnuméraires ventraux.
- d - Membre complexe de la série 20 où l'on peut compter 17 doigts.
- e - Régénérat hypomorphe de la série 18.
- a<sub>2</sub>, b<sub>2</sub>, c<sub>2</sub> - Représentation schématique de la position et de l'orientation relatives des membres au niveau des doigts. Un demi-cercle représente un doigt dont la face dorsale correspond à l'arc. Un cercle représente un doigt dont on n'a pas pu déterminer l'orientation *d-v*.

Les formations surnuméraires résultant des expériences de greffe de derme se développent faiblement (Pl. III, h ; Fig. 25).

Enfin le degré de développement des membres à formations surnuméraires est, d'une façon générale, plus important, lorsque les greffons sont constitués de fragments de muscles (série 23) que lorsqu'ils correspondent à des manchons de peau (séries 15 à 20). Cinq membres sur 15 présentent deux doigts surnuméraires (Fig. 26, a), six se composent de deux mains (Pl. III, f ; Fig. 26, b) tandis que les quatre



BIS  
LILLE

autres sont formés de trois ensembles pouvant représenter trois mains (Pl. III, g ; Fig. 26, c).

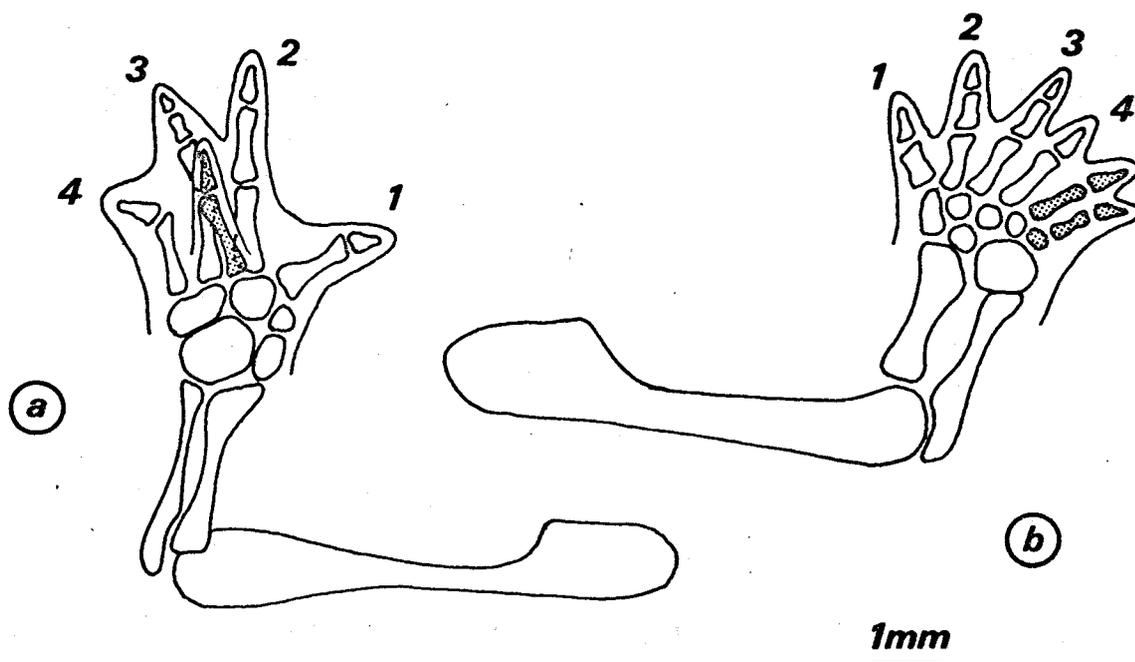


Fig. 25 - Régénération de membres à formations surnuméraires résultant de greffe hétéropleurale de manchon de derme (séries 21 et 22).

- a - Vue dorsale d'un squelette de membre gauche à un doigt surnuméraire dorsal (série 21).
- b - Vue dorsale d'un squelette de membre droit dont la main élargie présente 6 doigts (série 22).

#### d) Orientation

Les axes transverses des formations surnuméraires ne peuvent pas toujours être déterminés faute de développement suffisant. Il faut tout d'abord signaler que l'orientation du membre axial n'est pas toujours conforme à celle du membre porte-greffe. Trois cas ont été observés dans la série 17. Leur latéralité correspond à celle du membre opposé (Fig. 24, b). Lorsque les relations de symétrie ont pu être établies avec certitude dans les séries 15 à 20, le membre axial et le membre surnuméraire sont des images en miroir l'un de l'autre (série 15 : 1 cas ; série 16 : 4 cas ; série 17 : 2 cas ; série 20 : 3 cas). Dans la série 23 on

peut observer des ensembles de deux mains symétriques par rapport à un plan (Pl. III, f ; Fig. 26, b).

### C - CONTACTS ENTRE TISSUS DE FACES OPPOSÉES SUR TOUTE LA PÉRIPHÉRIE DU MOIGNON D'AMPUTATION

La régénération des membres opérés se fait essentiellement sous forme de membres simples et de membres à formations surnuméraires.

La série 27, où seule la polarité proximo-distale du manchon de peau greffé a été inversée par rapport à celle du membre porte-greffe, ne fournit que des membres simples normalement orientés. De tels résultats se retrouvent également dans la série 28 où l'amputation est réalisée à travers le bras mais distalement par rapport au manchon de peau greffé.

#### 1 - MEMBRES SIMPLES (Tableau 8)

Les membres simples ont tantôt l'orientation du membre porte-greffe et tantôt ils semblent avoir subi une torsion de 180 degrés amenant le coude vers l'avant et la paume de la main en position dorsale (Pl. IV, f). Ces derniers membres ont toutefois la même latéralité que le membre porte-greffe. Ils représentent 14 des 27 membres simples de l'ensemble des séries 25 et 26 mais un seul des 17 membres simples de la série 29.

#### 2 - MEMBRES HYPOMORPHES (Tableau 8)

Le seul cas de régénération hypomorphe rencontré dans la série 26 se présente sous forme d'un membre sans main dont l'avant-bras se termine en pointe. Le squelette de ce membre se compose d'un humérus sur lequel s'articule un os zeugopodial dont l'extrémité distale est effilée.

#### 3 - MEMBRES A FORMATIONS SURNUMÉRAIRES

##### a) Fréquence (Tableau 8)

La valeur moyenne de la fréquence d'obtention de membres à formations surnuméraires est de 71 %, ce qui est bien supérieur à ce qu'on obtenait avec des contacts entre tissus de faces opposées, en deux zones (39 %) ou en une zone (32 %). De même dans le cas de greffe de manchon de derme le pourcentage de membres à formations surnuméraires est de 29 % dans la série 29 contre seulement 8 % dans l'ensemble des séries 21 et 22.

Fig. 26 - Régénération de membres à formations surnuméraires résultant de greffe de muscle réalisant deux zones de contact de tissus de faces opposées (série 23).

C : cubitus ; R : radius ; S : formation surnuméraire.

- a<sub>1</sub> - Vue dorsale du squelette d'un membre droit présentant une formation dorsale correspondant au bord postérieur d'un membre.
- b<sub>1</sub> - Vue dorsale du squelette d'un membre gauche composé de deux mains symétriques par rapport à un plan, le radius étant commun au membre axial et au membre surnuméraire antérieur.
- c<sub>1</sub> - Vue dorsale du squelette d'un membre droit à trois mains. Un double centre morphogénétique s'est créé au contact du muscle greffé et de la peau d'une part et du muscle en place d'autre part.
- a<sub>2</sub>, b<sub>2</sub>, c<sub>2</sub> - Représentation schématique de la position et de l'orientation relatives des membres au niveau des doigts.

#### b) Localisation (Tableau 8)

Le problème de la localisation des formations surnuméraires par rapport au membre axial se pose de la même façon que précédemment. Néanmoins, lorsque les membres surnuméraires sont bien différenciés (Pl. III, i à n ; IV, e) on peut déterminer leur position relative. Le tableau 8 montre que les formations surnuméraires sont surtout localisées sur les faces ventrales et antérieures des membres axiaux. Bien souvent il n'a pas été possible de distinguer les formations surnuméraires du membre axial, les régénérats formant des ensembles complexes. (Pl. IV, a, b).

#### c) Degré de développement

Parmi les 58 membres à formations surnuméraires des séries 25 et 26 dont les squelettes ont pu être étudiés, 15 correspondent à une main élargie à 5 ou 6 doigts, 29 présentent un autopode à 7 ou 8 doigts (Pl. III, i) où l'on reconnaît parfois deux mains (Pl. III, j, k, m, n ; Fig. 27, a), enfin 14 ont plus de deux mains (Pl. III, l ; Fig. 27, b, c) ou sont complexes (Pl. IV, a, b). Le zeugopode de ces membres est constitué de deux os dans 21 cas, de trois os dans 26 cas et de quatre os ou plus dans 11 cas (Pl. IV, c, d ; Fig. 27, b).

Le degré de développement des membres surnuméraires de la série 29 est faible (Pl. IV, e ; Fig. 28).

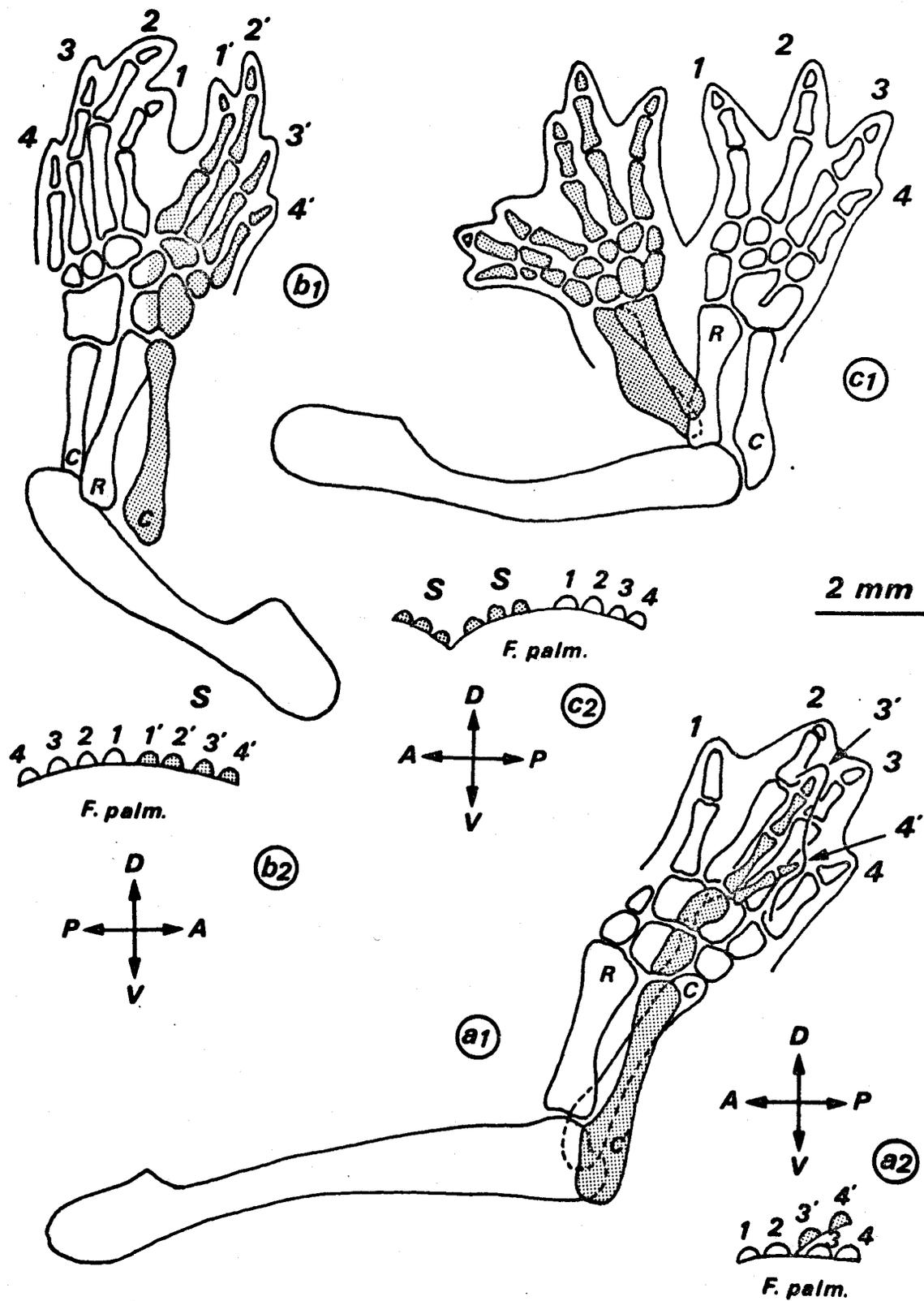


Tableau 8 - Régénération de membres amputés sur le moignon desquels ont été réalisés des contacts entre tissus de faces opposées, en tous points de la périphérie du moignon d'amputation (séries 25 à 29)

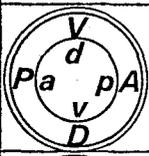
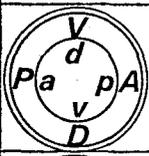
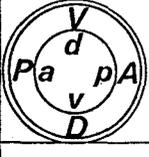
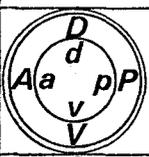
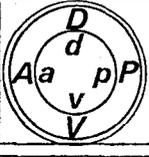
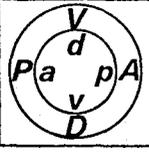
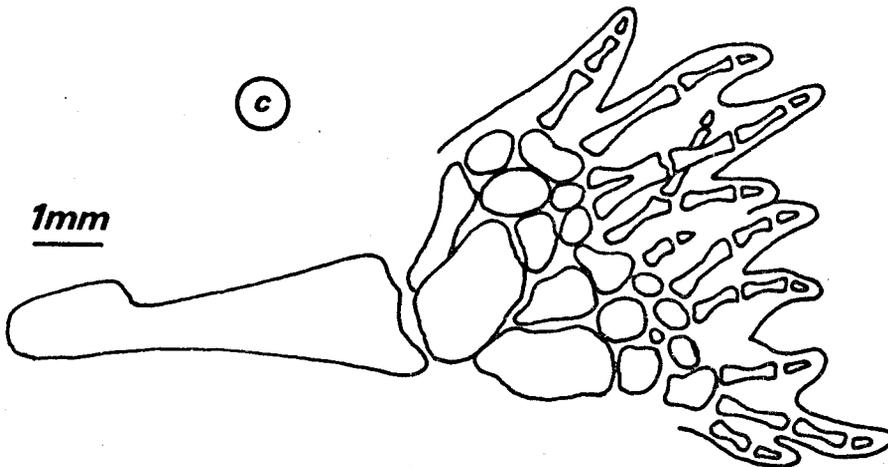
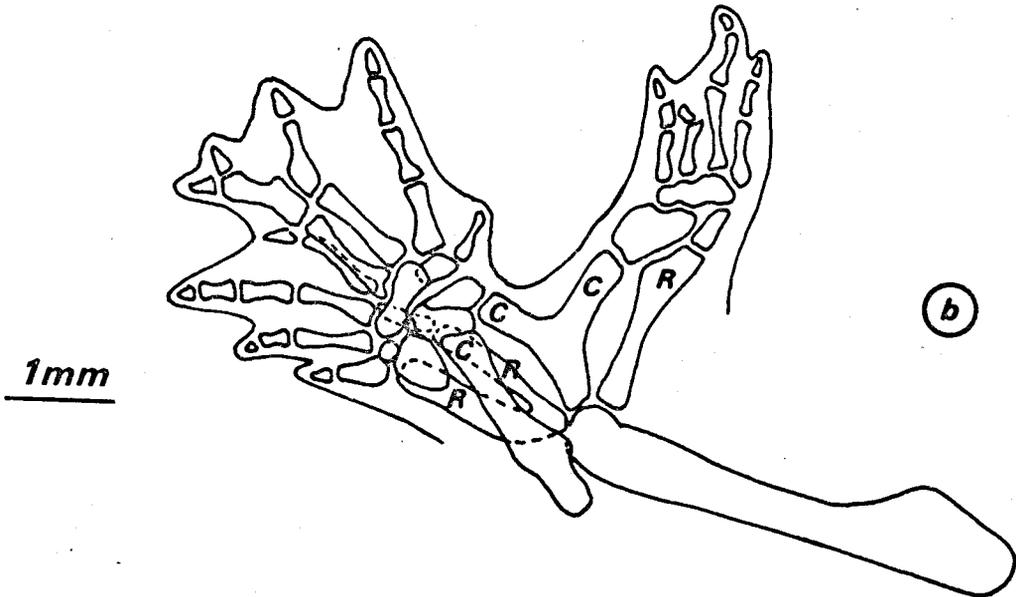
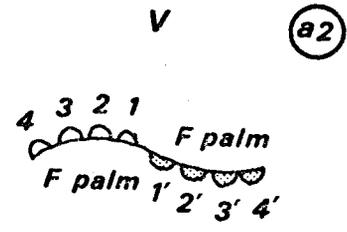
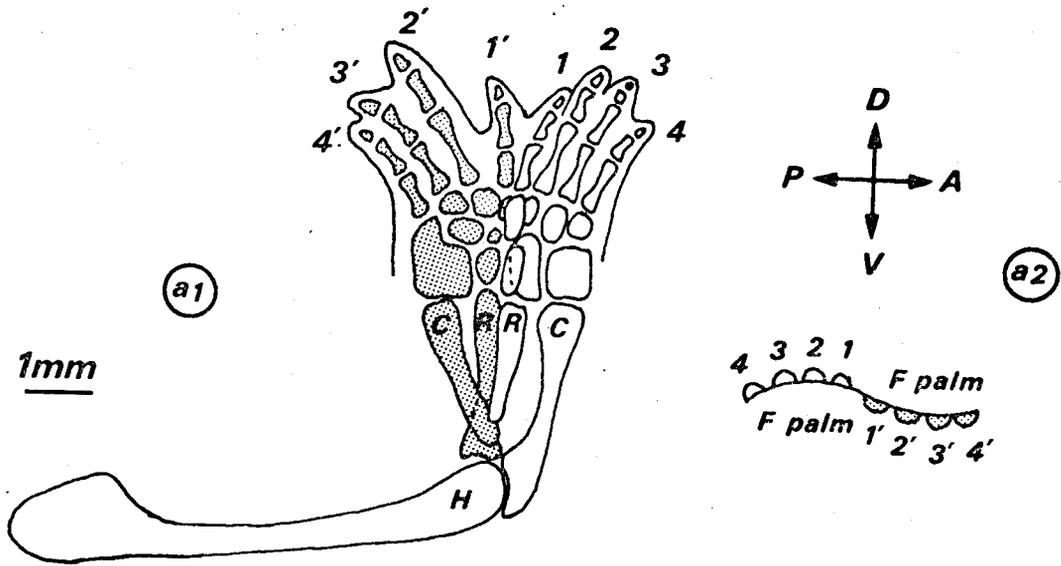
Séries		Nb de cas	Morphogenèses régénératrices			Localisation des formations surnuméraires					
			Régénération hypomorphe	membres simples	membres à formations surnumér.	d	v	a	p	plan a-p	2 faces non opposées + complexes
25		74		23 (31 %)	51 (69 %)	4	6	14			27
26		20	1 (5 %)	3 (15 %)	16 (80 %)		1	5	1	2	7
Total		94	1 (1 %)	26 (28 %)	67 (71 %)						
27		20		20 (100 %)	-						
28		9		9 (100 %)	-						
29		24		17 (71 %)	7 (29 %)		2	2	1		2

Fig. 27 - Régénération de membres à formations surnuméraires résultant de greffe homopleurale de manchon de peau réalisant un grand nombre de points de contact de tissus de faces opposées (série 25).

- a<sub>1</sub> - Vue ventrale du squelette d'un membre gauche montrant deux mains opposées par leur bord antérieur. Le membre axial est en position postérieure et le membre surnuméraire est antérieur. Ces deux membres ne sont pas symétriques par rapport à un plan. Ils ont même asymétrie. Ce squelette correspond à la Pl. III, m, n.
- a<sub>2</sub> - Représentation schématique de la position et de l'orientation relatives des membres au niveau des doigts.
- b - Squelette d'un membre gauche dont le zeugopode distal présente 6 os.
- c - Squelette d'un membre droit complexe dont les os du zeugopode sont courts, trapus et dont les doigts ne peuvent être groupés en mains distinctes.





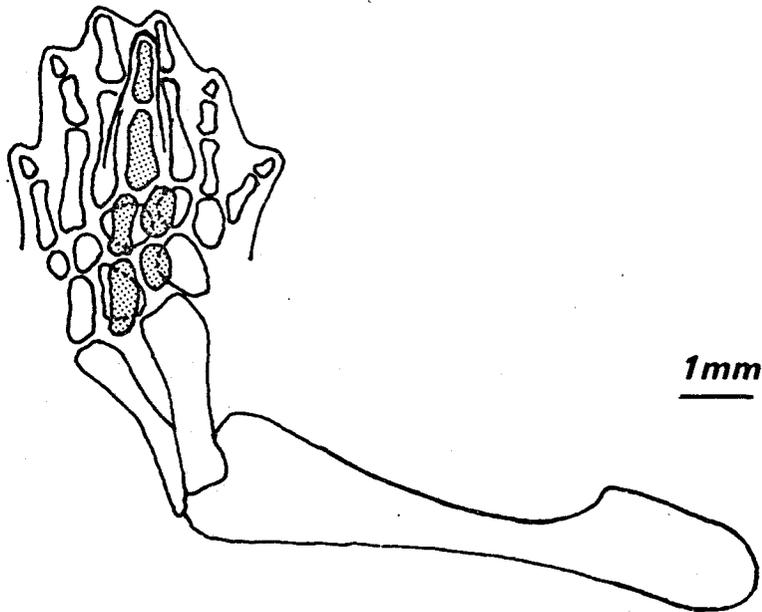


Fig. 28 - Squelette de membre régénéré de la série 29 montrant une main élargie composée de deux ensembles symétriques de trois doigts sur laquelle se sont formés quelques éléments cartilagineux constituant un doigt dorsal. (en grisé).

d) Orientation

Rappelons que certains membres simples présentaient une inversion de leurs axes de polarité transverses. Il en est de même pour quelques membres axiaux (série 25 : 9 cas ; série 26 : 2 cas) porteurs de formations surnuméraires peu développées. Les relations de symétrie entre membre axial et formations surnuméraires sont parfois conformes aux lois de BATESON-HARRISON (Pl. III, i à l) et ceci a été observé avec certitude dans 11 cas, mais dans deux cas les deux mains d'un membre double ne sont pas symétriques, mais ont la même latéralité (Pl. III, m, n ; Fig.27,a).

D - GREFFE DE TISSUS DE FLANC

Les membres amputés de la série 30 dont les moignons étaient entourés d'un manchon de peau de flanc se sont régénérés dans 34 cas sur 40 sous forme de membres simples. Les 6 autres cas correspondent à 5 absences de régénération et à un membre régénéré présentant deux doigts surnuméraires ventraux (Pl. IV, g, h). Les 31 membres gauches et les 31

membres droits des animaux opérés de la série 31 se sont tous régénérés normalement. Remarquons enfin que la pigmentation sombre de la peau de flanc se retrouve sur toute la surface des membres régénérés (Pl. IV, g).

### III - DISCUSSION

Des régénérats hypomorphes, normaux ou à formations surnuméraires, ont été observés selon des proportions variables suivant les séries expérimentales. Nous essaierons d'expliquer la genèse de tels régénérats d'après nos propres résultats et ceux obtenus sur les Batraciens par d'autres auteurs.

#### A - MEMBRES À FORMATIONS SURNUMÉRAIRES

##### 1 - ETUDE COMPAREE DES CARACTERISTIQUES DES FORMATIONS SURNUMÉRAIRES

###### a) Fréquence

Trois caractéristiques relatives à la fréquence d'obtention des formations surnuméraires peuvent être mises en évidence : (1) cette fréquence s'accroît en fonction du nombre de contacts entre tissus de faces opposées, autour du moignon d'amputation, (2) elle dépend de la position de ces contacts à la périphérie du moignon d'amputation et (3) elle est fonction de la nature du tissu greffé.

###### - Fréquence et nombre de contacts entre tissus de faces opposées

Le pourcentage global de membres à formations surnuméraires obtenus après greffe de peau croît régulièrement quand la greffe crée une zone, deux zones ou de nombreuses zones de contact entre les tissus de faces opposées (32 %, 39 % et 71 %). Cette même augmentation du pourcentage de membres à formations surnuméraires se retrouve aussi quand on greffe du derme ou du muscle. Toutefois ce pourcentage ne varie pas du simple au double quand on compare les résultats des séries d'expériences où une ou deux zones de contact sont créées, ni même quand on compare les résultats des séries où les contacts se font en deux zones et ceux où ils se font sur toute la périphérie du moignon.

###### - Fréquence et position des contacts entre tissus de faces opposées

La fréquence d'obtention des membres à formations surnuméraires est la plus élevée quand la zone de contact entre les tissus de faces opposées est située à la face antérieure du moignon (séries 8 et 14). Elle est

toujours très basse quand cette zone est à la face dorsale du moignon (séries 6, 10 et 12). La même association de tissu, muscle dorsal et peau ventrale, est située en position dorsale dans la série 6 et en position ventrale dans la série 9. Elle donne naissance à des membres à formations surnuméraires selon les fréquences respectives de 6 % et 59 %. Nous avons soupçonné (LHEUREUX, 1972) l'existence d'une relation éventuelle entre le développement privilégié des formations surnuméraires sur certaines faces et une inégale répartition des nerfs à la surface d'amputation. Les expériences que nous présentons dans la quatrième partie de ce mémoire prouvent le bien-fondé de cette hypothèse.

#### - Fréquence et nature des tissus greffés

Le pourcentage des membres à formations surnuméraires est faible quand on greffe du derme. Il est plus élevé quand on greffe de la peau ou du muscle. Par exemple, les taux d'obtention de membres à formations surnuméraires des séries 29 (greffe homopleurale d'un manchon de derme après rotation de 180 degrés) et 25 (expérience équivalente avec un manchon de peau) sont respectivement de 25 % et 69 %. CARLSON (1975 b) opérant sur l'axolotl obtient des taux respectifs de 81,8 % et 80 % à la suite d'expériences équivalentes aux nôtres. Les différences quantitatives observées dans nos résultats ont peut-être pour origine le développement dans le derme de nécroses consécutives à une absence momentanée d'épiderme protecteur. Les différences sont également nettes quand on compare les pourcentages de membres à formations surnuméraires régénérés après des greffes de peau ou de muscles. Dans la série 5 (secteur de peau dorsale sur face ventrale) on obtient 27 % de membres à formations surnuméraires, tandis que dans la série 9 (muscle dorsal sur face ventrale) on en obtient 59 %. L'explication peut être que la peau greffée n'est en contact qu'avec les tissus axiaux sous-jacents tandis que le muscle glissé sous la peau entre en contact avec celle-ci et avec la musculature sous-jacente, ce qui doublerait les chances de création d'un centre morphogénétique.

#### b) Localisation

La correspondance entre la localisation des formations surnuméraires et la position des zones de contact entre les tissus de faces opposées est parfaite dans les séries 5 à 8 (greffes de secteurs de peau effectuées sur l'avant-bras). Toutes les autres greffes sont faites sur les bras, ce qui facilite les changements de position relative des élé-

ments surnuméraires au cours de la croissance, par exemple une duplication ventrale du cubitus peut se traduire par le développement d'une main antérieure (Fig. 24, c). Ainsi sur les 19 membres à formations surnuméraires de la série 9 où du muscle dorsal a été greffé sous la peau ventrale du moignon d'amputation, 12 formations surnuméraires sont ventrales et 7 sont antérieures. Dans les séries d'expériences où sont créées deux zones de contacts entre les tissus de faces opposées, les défauts de correspondance entre la position de ces zones et les lieux de formation des éléments surnuméraires atteignent des proportions variant de 20 % à 30 %. Néanmoins, les formations surnuméraires sont au plus sur une face adjacente à celle de la zone de contact.

### c) Degré de développement

Le développement proximo-distal des formations surnuméraires est tout d'abord fonction du niveau de l'opération. Dans les séries 5 à 8, les formations surnuméraires sont limitées à l'autopode, et dans toutes les autres séries, elles peuvent être composées de l'autopode et du zeugopode. Toutefois dans de nombreux cas, le zeugopode n'est pas affecté par la duplication du membre régénéré. Tout se passe comme s'il y avait un glissement du centre de morphogenèse surnuméraire en direction distale. Ce glissement s'accompagne de la disparition de la région plus proximale qui aurait dû se développer. Le développement du membre axial serait plus précoce que celui du membre surnuméraire. Nous avons observé chez une araignée (LHEUREUX, 1970) un glissement en direction distale des formations surnuméraires, ce glissement pouvant s'observer dans l'intervalle de deux mues consécutives. De ce cas on ne peut qu'invoquer une tendance à l'élimination de l'appendice surnuméraire sinon à la fusion de ses éléments les plus proximaux avec les éléments correspondant de l'appendice axial.

La structure des formations surnuméraires de Pleurodèle correspond, dans un certain nombre de cas à celle d'une main bien constituée, que la procédure expérimentale à l'origine de celle-ci crée une ou plusieurs zones de contact entre les tissus de faces opposées (Figs 21, b ; 24, c ; 26, b ; 27, a). Les mains surnuméraires bien constituées correspondent principalement aux prestations qui se développent sur le bord antérieur du membre axial. Les éléments surnuméraires apparaissant sur les autres faces sont rarement des mains complètes. Les membres régénérés complexes se rencontrent principalement quand on réalise de nombreuses zones de contact entre les tissus de faces opposées. Ces membres complexes ne peuvent pas se décomposer en un ensemble de membres simples. Ils forment souvent un bouquet de doigts (Pl. IV, a, b). En résumé, nous dirons que le degré de développement des formations surnuméraires est très

variable et difficile à apprécier car la structure de telles formations est souvent intimement mêlée à celle du régénérat axial.

d) Orientation

Nous avons étudié l'orientation des formations surnuméraires plus en rapport avec celle du membre axial qu'avec celle du membre porte-greffe, car des torsions d'au moins 90 degrés affectent quelquefois l'ensemble du régénérat.

Les relations de symétrie entre les deux mains d'un membre double sont conformes aux lois de BATESON-HARRISON, c'est-à-dire que les mains sont symétriques par rapport à un plan, dans toutes les séries d'expériences où une ou deux zones de contact entre tissus de faces opposées ont été créées. Toutefois quelques exceptions ont été enregistrées lorsque le tissu greffé était musculaire. Dans les cas de contact entre tissus de faces opposées sur toute la périphérie du moignon d'amputation, les éléments composant les membres multiples peuvent être ou non symétriques et donc en accord ou non avec les lois de BATESON-HARRISON.

2 - GENESE DES FORMATIONS SURNUMERAIRES

L'analyse des caractéristiques des membres surnuméraires, dans le premier chapitre, avait permis de fournir une explication cohérente de la création d'un centre morphogénétique par contact entre les tissus d'une qualité appartenant au moignon et ceux de la qualité opposée appartenant au blastème greffé. La surface de contact se superposait à la surface d'amputation. Dans les expériences présentées dans ce chapitre, les surfaces de contacts se situent entre la peau et les tissus internes. L'explication de la genèse des membres surnuméraires, fournie dans le premier chapitre peut-elle convenir pour les expériences du second chapitre ?

Les caractéristiques des membres à formations surnuméraires que nous venons d'étudier sont comparables à celles observées après la greffe de blastèmes de régénération. Nous proposons donc une explication analogue à celle du premier chapitre pour la genèse des formations surnuméraires (Fig. 29). Le contact de la peau d'une face et de la musculature de la face opposée crée un centre morphogénétique surnuméraire. Les qualités mises en présence à ce niveau déterminent l'orientation du membre surnuméraire. Cette explication est en accord avec la localisation et l'orientation de la formation surnuméraire par rapport à celles du membre axial.

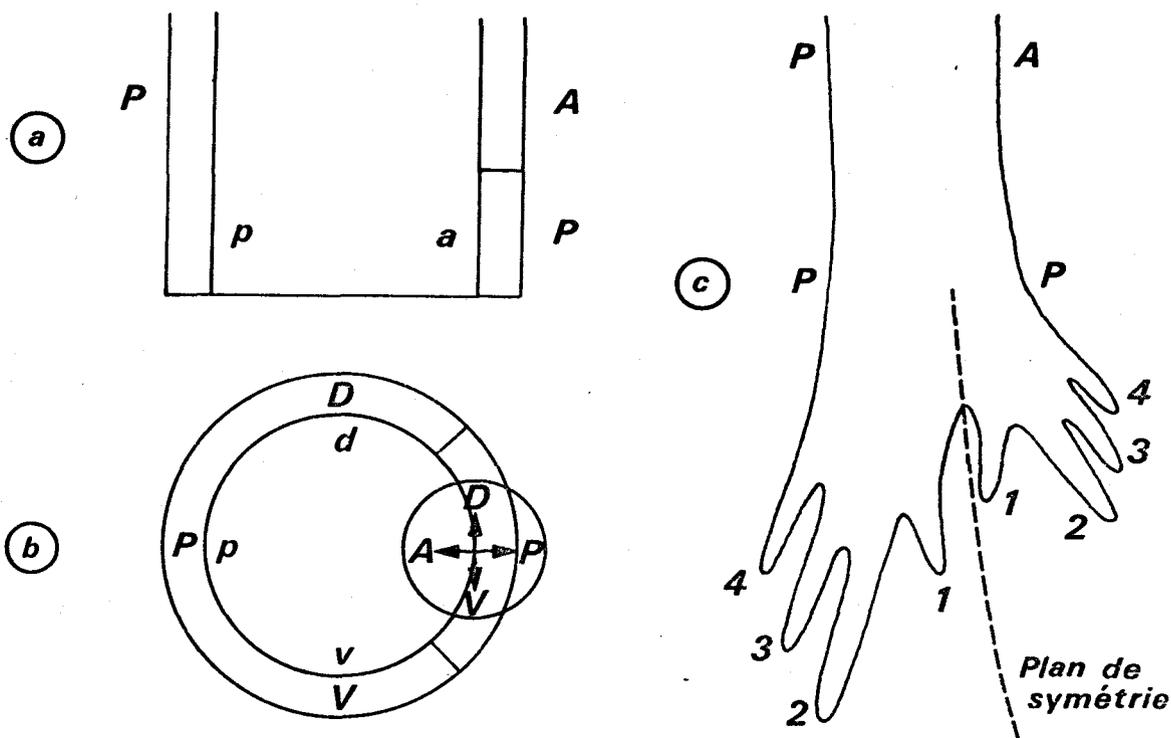


Fig. 29 - Position du greffon de peau postérieure en place du secteur de peau du bord antérieur du moignon d'amputation.

- a - Section frontale du membre amputé.
- b - Section transversale correspondant au moignon d'amputation.
- c - Membre régénéré présentant une formation surnuméraire antérieure dont la position et l'orientation sont celles du centre morphogénétique (petit cercle du schéma b) créé par contact de la peau postérieure et de la musculature antérieure.

Les relations de symétrie entre le membre axial et le membre surnuméraire dans le cas des greffes de muscles peuvent être ou non conformes aux lois de BATESON-HARRISON. Elles peuvent s'expliquer en supposant que le greffon de muscle dorsal par exemple, induit la création d'un centre morphogénétique surnuméraire soit au contact de la peau ventrale, et dans ce cas, les deux membres, axial et surnuméraire ont la même latéralité, soit au contact de la musculature ventrale et dans ce cas, les deux membres, axial et surnuméraire, sont symétriques par rapport à un plan (Fig. 30).

Enfin, la genèse des membres complexes lorsque de nombreux contacts entre les tissus de faces opposées sont établis, s'explique en admettant la création de nombreux centres morphogénétiques surnuméraires à la périphérie du moignon. La formation d'un centre morphogénétique ne nécessite sans doute que peu de cellules et nous supposons que la limitation du nombre des formations surnuméraires est due à une insuffisance de stimulation nerveuse au niveau de nombreux centres morphogénétiques potentiels (voir la quatrième partie). Deux membres complexes, composés de plus de 3 mains, se sont formés dans la série 20 où seulement deux contacts entre les tissus de faces opposées ont été créés. Il s'est donc formé plus de centres de morphogenèse que l'expérience ne le laissait supposer. Une première hypothèse consiste à admettre que des contacts entre la peau ventrale greffée et la musculature postérieure ou antérieure en place puissent être morphogénétiques. Elle n'est pas à exclure comme le montreront les résultats d'expériences présentées dans le prochain chapitre (séries 43 à 46). Une autre explication est que les contacts, même étroits, entre la peau dorsale greffée et la peau ventrale greffée sur les bords antérieur et postérieur du moignon, ont créé deux centres morphogénétiques surnuméraires.

En résumé, les centres morphogénétiques potentiels se forment au contact entre les tissus de qualités opposées. Leur développement pourrait être conditionné par une stimulation nerveuse.

### 3 - COMPARAISON DE NOS RESULTATS AVEC CEUX OBTENUS CHEZ D'AUTRES ESPECES

L'induction de morphogenèses surnuméraires par changement de la position relative des tissus superficiels et profonds au niveau du moignon d'amputation a fait l'objet d'expériences chez d'autres espèces d'Amphibiens. Ont été réalisées principalement des greffes de manchons de peau (DROIN, 1959 ; RAHMANI, 1960 ; SETTLES, 1967 ; CARLSON, 1974, 1975 b). Des éléments de squelette ont été greffés par GOSS (1956) et CARLSON (1975, b), ce dernier auteur ayant également transplanté du muscle et du derme. L'influence des tissus neutres, situés hors des territoires de régénération, sur la morphogenèse du membre a été également étudiée (TAUBE, 1921 ; POLEZAJEW et FAWORINA, 1935 ; LUTHER, 1948 ; TRAMPUSCH, 1958 ; DROIN, 1959 ; THORNTON, 1962).

Des expériences équivalentes à notre série 25 (RAHMANI, 1960 ; SETTLES, 1967 ; CARLSON, 1974, 1975 b) permettent d'obtenir des membres multiples dans des proportions semblables à celles que nous avons

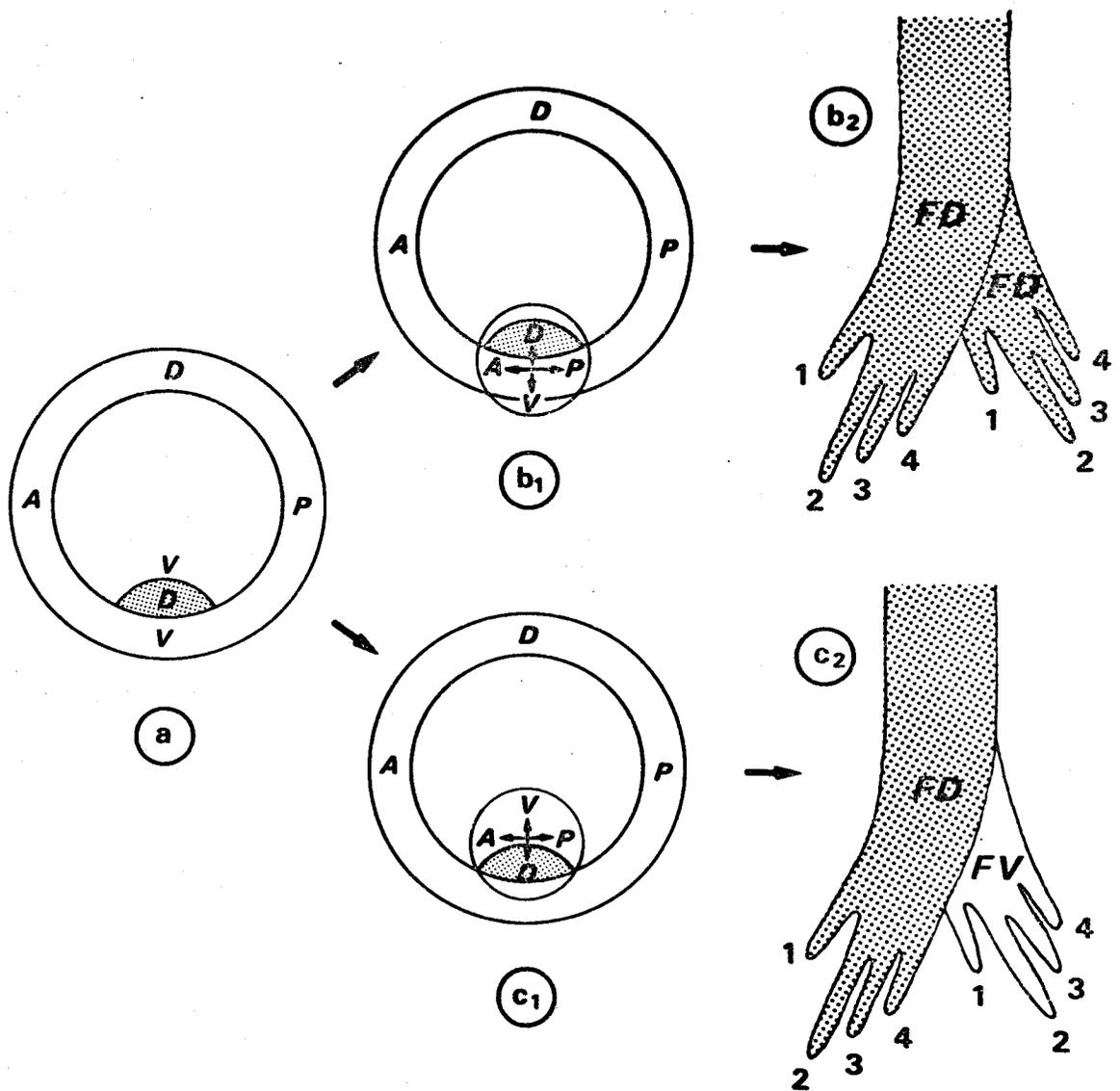


Fig. 30 - Les centres morphogénétiques surnuméraires créés par greffe de muscle.

- a - Schéma représentant les contacts existant entre le muscle dorsal greffé et les tissus ventraux environnants.
- b - b<sub>1</sub> : Schéma montrant que le centre morphogénétique peut naître au contact entre le muscle greffé et la peau en place. Le membre surnuméraire dont les axes transverses correspondent à ceux du membre axial est donc de même latéralité que lui (b<sub>2</sub>).
- c - c<sub>1</sub> : Schéma montrant que le centre morphogénétique peut naître au contact entre le muscle greffé et le muscle en place. Le membre surnuméraire dont l'axe d-v est en opposition d'orientation par rapport à celui du régénérat axial, est l'image en miroir de ce dernier, donc de latéralité opposée (c<sub>2</sub>).

obtenues. Tous ces auteurs expliquent le développement de membres surnuméraires comme le résultat de conflits liés à des orientations inverses.

Un résultat particulièrement intéressant de RAHMANI (1960) mérite d'être rappelé. Cet auteur a obtenu des membres triples et même des membres quadruples, ces derniers se développant à partir du centre morphogénétique axial et de trois centres morphogénétiques surnuméraires. La présence de trois centres morphogénétiques surnuméraires s'explique parfaitement à la lumière du modèle que nous avons proposé.

DROIN (1959) et CARLSON (1974) ont réalisé des greffes hétéropleurales de manchons de peau avec inversion de l'orientation  $\alpha$ - $p$  (notre série 18). Nos résultats sont conformes aux leurs. Par contre CARLSON (1974) n'observe pas le développement de formations surnuméraires après la greffe hétéropleurale de manchons de peau ayant subi une inversion d'orientation  $d$ - $v$  (notre série 17) et en cela ses résultats diffèrent des nôtres, publiés en 1972.

CARLSON (1974) réalise le remplacement de demi-manchons de peau antérieure par des demi-manchons de peau postérieure ou l'opération inverse. Les résultats de ses expériences confirment ceux de nos séries 7 et 8. Par contre, quand il remplace des demi-manchons de peau dorsale par des demi-manchons de peau ventrale ou inversement, il n'obtient aucun membre multiple, ce qui diffère des résultats de nos séries 5 et 6. L'auteur n'explique pas ces différences. Il attribue la formation de membres multiples à un conflit de gradients de valeurs de position, distribuées, selon l'auteur, sur le seul axe  $\alpha$ - $p$ . SETTLES (1967) greffe des bandes dorsale ou ventrale de peau de membre autour d'un moignon d'amputation (nos séries 11 et 12) et obtient, comme nous, des membres simples, des membres hypomorphes et des membres multiples. L'auteur ne considère que la genèse des membres à formations surnuméraires. Il pense que le contact de la peau dorsale et des tissus sous-cutanés ventraux n'est pas la cause des structures surnuméraires, mais suggère que la peau des bords  $\alpha$  et  $p$  est potentiellement apte à former des bourgeons de doigts et qu'elle est aussi vectoriellement polarisée. Nous supposons donc qu'il accorde à la rotation de 90 degrés de la peau greffée, un rôle dans la production des membres surnuméraires. Des expériences complémentaires seront présentées dans notre prochain chapitre. Nous discuterons alors de la rotation de 90 degrés de l'axe proximo-distal de la peau dans la régénération.

Après avoir inversé la position des muscles  $d$  et  $v$  de moignons

de membres d'Axolotl, CARLSON (1975 a, b) observe la régénération de membres multiples. L'auteur donne pour ce résultat, la même explication que celle qui lui permet de comprendre l'apparition de membres multiples régénérés après des greffes de manchons de peau sur des moignons d'amputation.

Aucune formation surnuméraire n'a été observée après la régénération de membres amputés au niveau du bras et dont l'humérus avait subi une rotation de 180 degrés ou encore provenait du membre contralatéral (CARLSON, 1975 b). L'auteur considère que ce résultat peut s'expliquer soit par un déplacement trop faible de l'os au sein des tissus environnants, soit par une absence d'influence morphogénétique de l'os lorsque sa position est perturbée. La greffe d'un cubitus supplémentaire au sein d'un avant-bras de Triton (GOSS, 1956) permet, après amputation du membre au milieu de l'avant-bras, l'apparition, dans le régénérat, d'éléments distaux surnuméraires ce qui démontre l'influence morphogénétique des os.

## B - MEMBRES SIMPLES

Lors de la régénération sous la forme d'un membre simple, les centres morphogénétiques potentiels, créés par contact entre les tissus de faces opposées, ne se sont pas exprimés. Est-ce à dire que les greffons n'ont pas influencé la régénération ? Examinons sous cet aspect l'orientation des membres simples. Elle est toujours conforme à celle du membre amputé, quand on greffe de la peau d'une qualité ou quand le greffon est de nature musculaire. Par contre après la greffe hétéropleurale de manchons de peau et dans la série 20, quelques membres simples présentent une inversion d'orientation d'un de leurs axes transverses, et leur latéralité est celle des membres contralatéraux. La même observation a été faite par DROIN (1959) et CARLSON (1974). L'inversion peut aussi affecter tous les axes transverses du membre simple régénéré et ce dernier semble alors avoir subi une rotation de 180 degrés. De tels cas s'observent après la rotation d'un manchon de peau de 180 degrés et sa greffe homopleurale. CARLSON (1974) n'obtient que deux membres simples sur 15 après avoir effectué cette même expérience et indique simplement que leur orientation n'est pas parfaite.

SETTLES (1967) observe, chez *Triturus viridescens*, après une rotation homopleurale de 45 degrés d'un manchon de peau, la régénération d'un membre simple affecté d'une torsion correspondante de 45 degrés.

Enfin quand la peau neutre greffée permet la régénération du membre, ce dernier est simple et son orientation est conforme à celle du membre amputé.

En conclusion, l'orientation des membres régénérés se fait donc sous l'influence soit de la peau, soit des tissus axiaux.

### C - ABSENCE DE RÉGÉNÉRATION ET MEMBRES HYPOMORPHES

Une absence de régénération ou une régénération hypomorphe sont observées, soit lorsque la peau greffée en manchon autour du moignon d'amputation correspond à une seule qualité (22 %), soit lorsque le manchon de peau où toutes les qualités sont représentées, a subi une inversion d'orientation *pr-di* (7 cas sur 78, soit 9 %), soit enfin quand la peau de flanc est greffée en manchon autour du moignon d'amputation (12 %).

La peau elle-même serait-elle responsable et comment, de ces inhibitions de croissance régénératrice ?

Ni TAUBE (1921), ni DROIN (1959) après des greffes respectivement de peau de ventre et de flanc à la place de peau de moignon de membre n'ont observé d'inhibition de régénération.

Par contre, la peau de tête, greffée sur le membre a des effets variables sur la régénération. POLEZAJEW et FAWORINA (1935) constatent l'action inhibitrice de la peau de tête d'*Axolotl* (espèce non précisée) sur la régénération du membre, tandis que THORNTON (1962) constate que la peau de tête d'*Ambystoma talpoideum* est inhibitrice de la régénération du membre alors que celle d'*Ambystoma macrodactylum* permet cette régénération.

L'absence de régénération a été observée dans quelques cas dans les séries 18 et 26 où l'orientation proximo-distale de la peau semble en cause. On remarque toutefois que la dysharmonie d'orientation transverse introduite par la greffe de peau se situe dans le plan *a-p*. CARLSON (1974) a procédé à l'inversion de l'axe *pr-di* de manchons de peau dans une série d'expériences équivalente à notre série 27 et comme nous, il n'obtient aucune régénération hypomorphe.

L'absence de régénération et la formation de membres peu développés ont également été observées par SETTLES (1967) à la suite de greffes, de bandes de peau dorsale ou ventrale, en manchon autour des tissus axiaux, mais l'auteur ne fait aucun commentaire sur ce résultat.

Afin d'expliquer cette absence de régénération, mais aussi la variabilité des résultats obtenus parfois dans une même série expérimentale, nous allons proposer une hypothèse qui permettrait d'interpréter bon nombre de résultats.

## D - HYPOTHÈSE PERMETTANT D'EXPLIQUER LA VARIABILITÉ DES RÉSULTATS D'UNE MÊME SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Dans les séries 15, 17 et 20 où la peau greffée crée deux zones de contact entre les tissus de qualités opposées sur les faces dorsales et ventrales, on obtient tantôt des membres à formations surnuméraires, tantôt des membres simples ayant la latéralité du membre opéré, tantôt des membres simples ayant la latéralité du membre opposé. De même dans les séries 11 à 14 où une bande de peau de membre est greffée en manchon autour du moignon d'amputation, on observe aussi bien des membres à formations surnuméraires que des membres simples ou des régénérats hypomorphes. Est-il possible de trouver une hypothèse qui rende compte de la variabilité des résultats ?

Nous avons remarqué que l'orientation des membres simples des séries 15, 17 et 20 peut être conforme à celle de la peau ou conforme à celle des tissus axiaux. Nous supposons donc que le tissu responsable à la fois de la forme et de l'orientation du régénérat, peut être tantôt la peau, tantôt les tissus axiaux.

Tout se passe comme si, du point de vue de la morphogenèse, un tissu dominait l'autre. Ceci nous avait conduit à la notion de dominance morphogénétique (LHEUREUX, 1975 a). Nous nous sommes demandés comment un tissu pouvait être morphogénétiquement dominant. Nous supposons que, selon les individus, les tissus du moignon participeraient de façon inégale ou égale à la constitution du blastème de régénération. Par exemple, dans la série 20, quand la peau greffée participe de façon prépondérante à la formation du blastème de régénération, l'orientation *d-v* du régénérat est inversée, conformément aux positions inversées de la peau dorsale et de la peau ventrale (Fig. 31). Par contre, dans le cas d'une participation prédominante des tissus axiaux à la formation du blastème, l'orientation du régénérat est conforme à celle des tissus axiaux. Cette prédominance de la participation d'un tissu n'élimine pas la possibilité d'une collaboration des autres tissus à l'édification des tissus du membre régénéré. Dans cette même série 20, nous observons enfin la régénération de membres à formations surnuméraires. Nous supposons que le développement d'une formation surnuméraire nécessite une participation équilibrée des cellules des tissus de faces opposées mis en contact, à la constitution du blastème, seule la présence de cellules affectées des valeurs de position complémentaires pouvant assurer le développement harmonieux d'un membre.

Cette hypothèse permet de comprendre également la variabilité des résultats des expériences de la série 11, où l'un des tissus, la peau, n'est

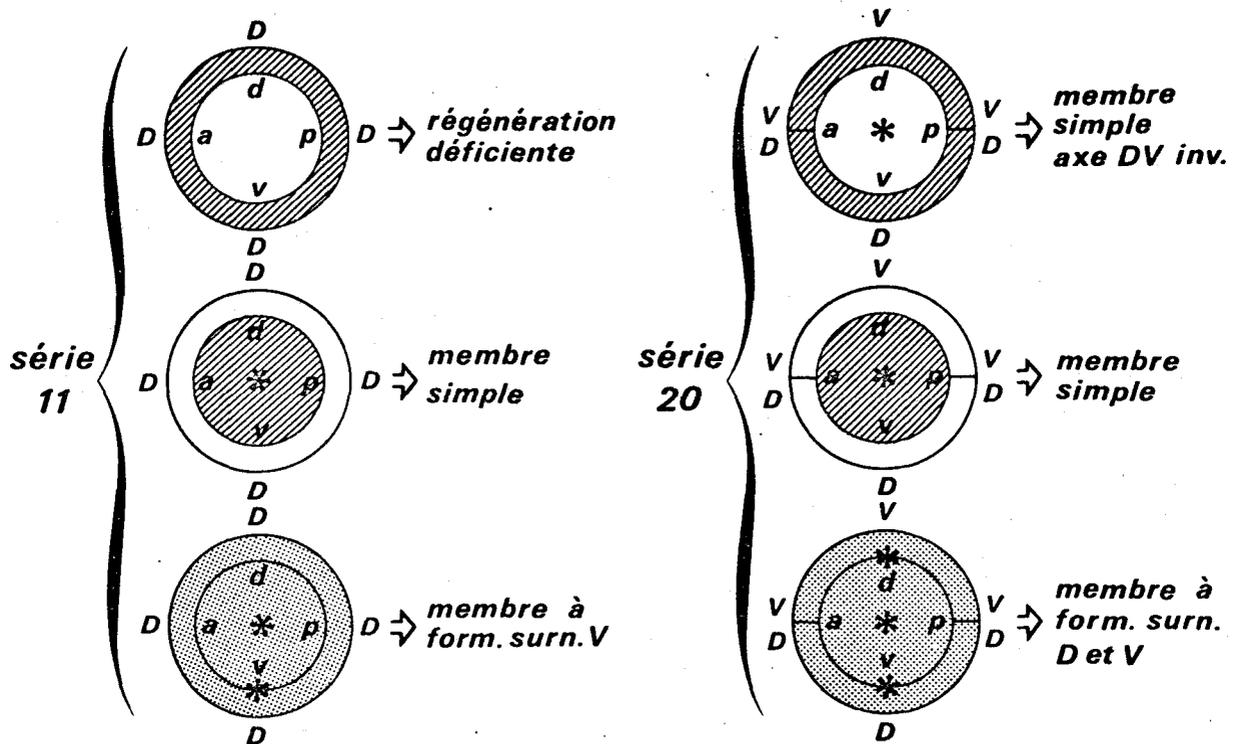


Fig. 31 - Schéma montrant une participation prépondérante (gris hachuré) ou équivalente (gris ponctué) des tissus cutanés ou profonds à la formation du blastème et par conséquent à la morphogénèse. Cette hypothèse rend compte de la variabilité des résultats obtenus dans les séries 11 et 20.

représenté que par une qualité, la qualité dorsale (Fig. 31). Quand la peau greffée et les tissus axiaux participent de façon équivalente à la constitution du blastème, un centre surnuméraire se forme au point de contact de la peau dorsale greffée et des muscles ventraux du porte-greffe, à côté du centre morphogénétique régénérateur axial. Par contre, une participation dominante des tissus axiaux se traduit par la régénération d'un membre simple de même orientation que le porte-greffe. Enfin, si la peau participe de façon prépondérante à la constitution du blastème, il y a alors absence de régénération, car le greffon de peau n'est affecté que par une seule valeur de position.

Cette hypothèse permet de comprendre comment la peau de flanc, greffée en manchon autour d'un moignon d'amputation, peut parfois inhiber la régénération. Enfin nous comprenons mieux que le derme greffé, probablement affecté par l'absence prolongée de l'épiderme protecteur et par suite insuffisamment représenté au sein du blastème, induise peu de formations surnuméraires.

## CONCLUSION

Les tissus superficiels et profonds d'un moignon d'amputation de membre sont affectés selon leur situation de qualités ou valeurs de position.

Les contacts ou associations de tissus de qualités opposées sont à la base de l'organisation d'un centre morphogénétique.

Les tissus cutanés d'une part, les tissus axiaux de l'autre, sont capables de diriger la morphogenèse régénératrice du membre. On suppose pour cela que les uns ou les autres puissent participer de façon prépondérante à la constitution du blastème.

Un centre morphogénétique surnuméraire potentiel est créé dans toute zone de contact entre les tissus provenant de faces diamétralement opposées. Son développement serait conditionné par une participation équivalente des tissussuperficiels et profonds à la formation d'un blastème surnuméraire.

DEUXIEME PARTIE

ANALYSE DES MORPHOGENESES OBTENUES A  
PARTIR DE GREFFES DE TISSUS  
NON IRRADIES SUR DES MEMBRES IRRADIES

L'étude de l'origine des membres surnuméraires a montré qu'un centre de morphogenèse peut être créé par l'association de tissus provenant de deux faces opposées. En complément de ce résultat, la régénération des membres simples a permis de supposer que les tissus gouvernant la régénération seraient, selon les individus, tantôt la peau, tantôt les tissus internes, tantôt l'ensemble des tissus du moignon. Quelle que soit l'hypothèse considérée, tous les tissus participent néanmoins à la régénération. Devant ces résultats, qui ont en outre permis d'établir des aptitudes variables des différents tissus dans la création de centres morphogénétiques, nous avons cherché à savoir s'il était possible de mieux préciser ces potentialités. Comment procéder ? Il n'est pas possible de conserver électivement l'un ou l'autre des tissus d'un membre en supprimant tous les autres. Par contre, il est aisé d'isoler chirurgicalement de la peau, du muscle, de l'os, du cartilage et même de séparer le derme de l'épiderme. Une fois isolés, il convient de placer chacun de ces tissus dans un contexte morphogénétiquement neutre pour lui permettre d'exprimer ses potentialités. En l'occurrence nous avons eu recours au moignon d'un membre irradié.

1 - UN PORTE-GREFFE MORPHOGENETIQUEMENT NEUTRE :  
LE MOIGNON D'UN MEMBRE IRRADIE

En 1933, BUTLER démontre l'influence inhibitrice de l'irradiation X sur la régénération des membres de larves d'*Axolotl*. Depuis, différents auteurs ont implanté des tissus très divers dans les moignons de membres irradiés (Tableau 9) et constaté une régénération plus ou moins nette de ces membres. Mais la régénération a-t-elle vraiment procédé des tissus irradiés qui, dans cette hypothèse, ne pourraient constituer un substrat morphogénétiquement neutre. Lorsque nous avons entrepris des études expérimentales à ce sujet, l'éventuelle participation des tissus irradiés à la régénération n'était pas écartée. Nous nous sommes donc attachés à ce problème, d'abord en démontrant que les tissus irradiés avaient perdu toute fonction morphogénétique, puis en prouvant, après avoir greffé des tissus triploïdes dans des moignons de membres diploïdes irradiés et analysé qualitativement et quantitativement les tissus des régénérats, que les tissus irradiés ne participaient pas à l'édification des membres régénérés. Le terme de régénérat, en toute rigueur, ne peut leur être appliqué puisqu'il n'y a pas reconstitution des parties distales amputées par les tissus diploïdes irradiés, mais expression des potentialités morphogénétiques des greffons non irradiés. Nous lui préférons donc le terme de néoformation. Toutefois le terme de régénération consacré par l'usage sera encore

Tableau 9 - Expériences réalisées sur le membre irradié d'Urodèle dans le but d'en restaurer les capacités régénératrices.

Opérations	Auteurs	Obtention de la régénération
<u>GREFFES DE TISSUS NON IRRADIES</u>		
<u>Peau de membre</u>	Umanski 1937, 1938, 1939, 1946 Umanski et Basina 1948 Luther 1948 Sidorova 1949 Umanski <i>et al.</i> 1951 Trampusch 1951, 1958 Rahmani et Kiorlsis 1961 Carlson 1974 Desha 1974 Namenwirth 1974 Lheureux 1975 b Dunis et Namenwirth 1976	oui oui oui oui oui oui oui oui oui oui oui
<u>Bande de peau de membre + rotation de 90 degrés</u>	Umanski <i>et al.</i> 1951 Carlson 1974 Lheureux 1975 b	non non non
<u>Peau de queue</u>	Umanski 1938, 1946 Sidorova 1949 Trampusch 1958	oui oui oui
<u>Peau de flanc</u>	Umanski 1937, 1938 Luther 1948 Trampusch 1958 Lazard 1959 Lheureux 1975 b	non non non oui non
<u>Peau de tête</u>	Umanski 1937, 1938 Lazard 1967	non non
<u>Peau de cou</u>	Umanski 1937, 1938	non



Tableau 9 (suite 1)

Opérations	Auteurs	Obtention de la régénération
<u>Derme</u>	Lheureux 1976	oui
<u>Epiderme</u>	Rose <i>et al.</i> 1955 Namenwirth 1974 Lheureux 1976	oui non non
<u>Muscle de membre</u>	Umanski 1937 Thornton 1942 Trampusch 1951 Namenwirth 1974 Lheureux 1975 b	oui oui oui oui oui
<u>Muscle de queue</u>	Thornton 1942 Liosner 1947	oui oui
<u>Muscle de flanc</u>	Lheureux 1975 b	non
<u>Os de membre</u>	Umanski 1937, 1938, 1938 Trampusch 1951, 1958	oui oui
<u>Cartilage de membre</u>	Eggert 1966 Desselle 1968 Namenwirth 1974 Wallace <i>et al.</i> 1974	non oui oui oui
<u>Mandibule</u>	Trampusch 1958	non
<u>Vertèbre</u>	Trampusch 1958	oui
<u>Nerfs</u>	Wallace et Wallace 1973	oui
<u>Rate</u>	Lazard 1967	oui
<u>Coeur</u>	Sidorova 1951	oui
<u>Foie</u>	Sidorova 1951 Lazard 1967	oui non



Tableau 9 (suite 2)

Opérations	Auteurs	Obtention de la régénération
<u>Poumon</u>	Sidorova 1951	oui
<u>Testicules et ovaires</u>	Lazard 1967	oui
<u>Tissus embryonnaires</u>	Lazard 1967	oui
<u>CELLULES ET FRACTIONS CELLULAIRES</u>		
Suspension de cellules de membres	Skowron et Roguski 1958 Lagan 1961	oui oui
Suspension de cellules de blastème	Roguski 1961	oui
Suspension de cellules de tête	Lagan 1961	non
Homogénats de muscle de membre	Polezajew 1959	oui
Homogénats de tissus divers	Polezajew et Ermakova 1960	oui
Homogénats de cartilage	Desselle 1968	oui
Extraits de blastème	Deck et Dent 1970	non
ADN, ARN et protéine	Polezajew <i>et al.</i> 1963	oui
<u>TRAUMATISME</u>		
Piqûres	Tuchkova 1966	oui
Hachage des tissus internes irradiés	Tuchkova 1966	oui
Incision de la peau du moignon irradié à l'épaule non irradiée	Conn <i>et al.</i> 1971	oui
	Lheureux 1975 b	non



utilisé. Notons qu'un tel moignon de membre irradié permet aux tissus greffés d'exprimer leurs potentialités parce que le réseau circulatoire y persiste et que ses nerfs ne semblent pas affectés par les doses habituelles de rayons X (WALLACE *et al.*, 1971 ; nos résultats de morphogenèse régénératrice obtenue sur des animaux totalement irradiés : voir le quatrième chapitre de ce mémoire).

Avant d'examiner les comportements des différents tissus dans un moignon irradié, précisons les conditions de l'irradiation qui garantissent l'absence de régénération.

## 2 - EFFICACITE DES DOSES DE RAYONS X DELIVREES : ABSENCE DE REGENERATION DES MEMBRES IRRADIES AMPUTES

### a) Expérimentation

Seul le membre droit est irradié selon la technique décrite précédemment (page 10).

Un premier lot de 37 animaux est irradié à la dose de 5 000 r. L'amputation est réalisée au milieu du bras.

Un deuxième lot de 33 animaux est irradié à la dose de 2 000 r. L'amputation est réalisée au milieu du bras.

Un troisième lot de 22 animaux est irradié à la dose de 2 000 r. Une première amputation est faite au milieu de l'avant-bras. Trois mois et demi plus tard, à la suite d'une régression plus ou moins importante, une nouvelle amputation est réalisée à un niveau un peu plus proximal.

### b) Résultats

Parmi les 37 animaux du premier lot, 28 ont survécu pendant une période de 6 mois et demi après amputation. Les 33 animaux du deuxième lot ont été conservés pendant 5 mois et les 21 survivants du troisième lot ont été élevés 5 mois après la deuxième amputation.

Aucun membre ne s'est régénéré. Par suite, tous les membres irradiés ont reçu une dose de 2 000 r.

## CHAPITRE III

### POTENTIALITES MORPHOGENETIQUES

#### DES TISSUS DU MEMBRE

Les potentialités morphogénétiques des tissus suivants : peau, derme, épiderme, muscle, os et cartilage ont été étudiées.

#### A - POTENTIALITÉS MORPHOGÉNÉTIQUES DE LA PEAU

L'étude des potentialités morphogénétiques de la peau est faite par greffe de manchons de peau de membre ou de bandes de peau de membre ou de flanc, autour du moignon d'un bras irradié. Ont d'abord été réalisées des transplantations de manchons de peau sur lesquels toutes les qualités *d*, *v*, *a* et *p* étaient représentées. Puis, le nombre de qualités présentes dans la peau non irradiée a été progressivement diminué jusqu'à ce que le greffon corresponde à la peau d'une seule face.

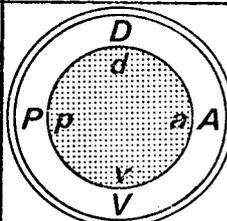
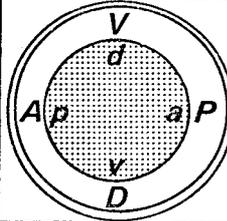
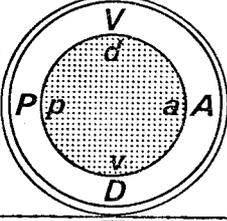
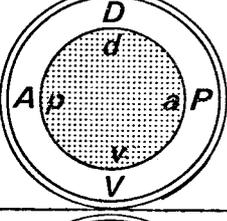
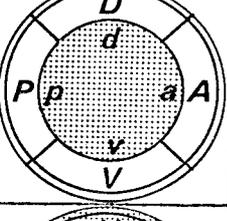
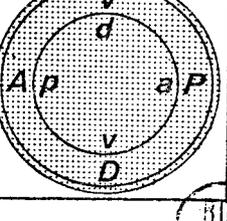
#### 1 - GREFFE DE PEAU DE BRAS

##### a) Présence des quatre qualités *d*, *v*, *a* et *p* dans le greffon : séries 32 à 37

##### - Expériences (Tableau 10)

Dans les séries 32 à 36, la peau irradiée du moignon du bras droit est totalement remplacée par un manchon de peau non irradiée du bras gauche. Les séries diffèrent par l'orientation des axes *d-v*, *a-p* et *pr-di* des greffons par rapport à celle des axes du membre receveur. Les figures 32 et 33 illustrent les procédures expérimentales respectives des séries 35 et 36.

Tableau 10 - Procédures expérimentales des séries 32 à 37 (Quatre qualités ou davantage présentes dans la peau greffée).

Séries	Greffon	Polarités des axes des greffons par rapport à celles des axes du membre porte-greffe			Qualités présentes	Surface d'amputation
		<i>d-v</i>	<i>a-p</i>	<i>pr-di</i>		
32	manchon de peau de bras	conforme	conforme	inverse	toutes	
33	manchon de peau de bras	inverse	inverse	inverse	toutes	
34	manchon de peau de bras	inverse	conforme	conforme	toutes	
35	manchon de peau de bras	conforme	inverse	conforme	toutes	
36	manchon coupé en quatre	conforme	conforme	rotation 90 degrés	<i>d, v, a, p</i>	
37 témoin	manchon de peau de bras irradié	inverse	inverse	conforme	toutes	

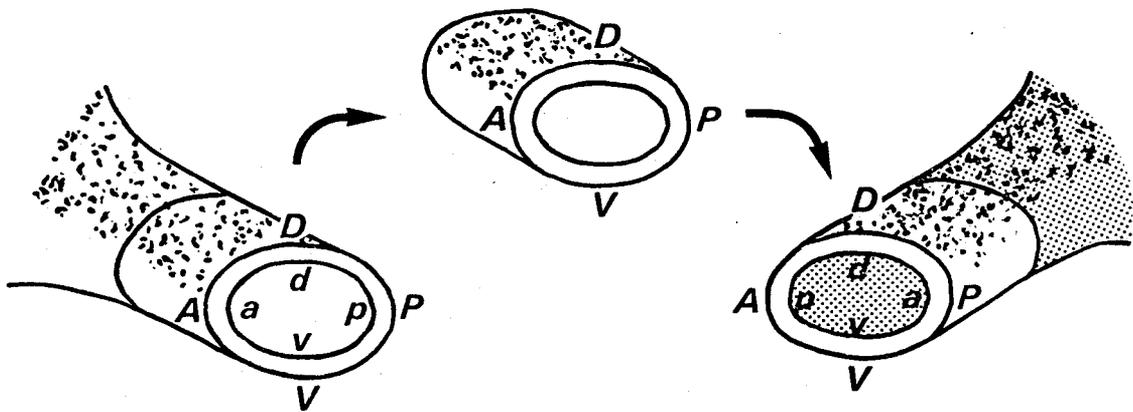


Fig. 32 - Greffe d'un manchon de peau non irradiée provenant du membre gauche, en place de la peau du moignon d'amputation du membre droit irradié (série 35). Les régions grisées sont irradiées. D, V, A, P et d, v, a, p : qualités dorsale, ventrale, antérieure et postérieure de la peau et des tissus internes.

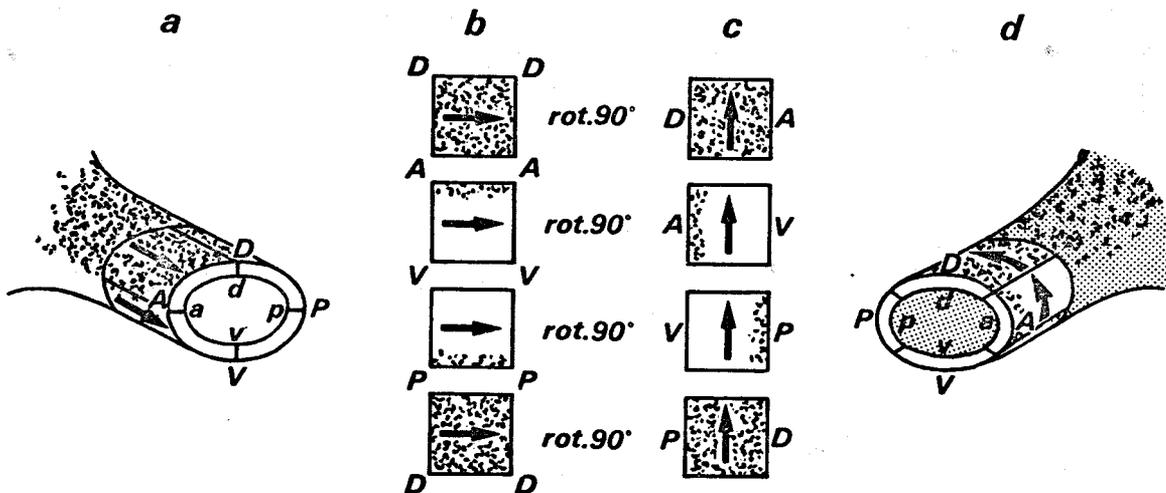


Fig. 33 - Schéma explicatif de la procédure expérimentale de la série 36.

- a - Membre donneur non irradié.
- b - Manchon de peau prélevé sur le membre donneur, sectionné suivant les 4 génératrices dorsale, antérieure, ventrale et postérieure.
- c - Le greffon de peau est coupé en 4 secteurs dont chacun subit une rotation de 90°.
- d - Chaque secteur est greffé sur le membre droit irradié dans le quart correspondant à sa qualité, l'ensemble des secteurs formant un manchon continu de peau non irradiée.

D, V, A, P et d, v, a, p : qualités dorsale, ventrale, antérieure et postérieure de la peau et des tissus internes. La flèche indique le sens proximo-distal. Les tissus irradiés sont en grisé.

Dans la série 37, série témoin, un manchon de peau de membre irradié est détaché des tissus sous-jacents, et subit une rotation de 180 degrés autour de l'axe proximo-distal du membre irradié avant d'être greffé sur ces mêmes tissus.

- Résultats des séries 32 à 37 (Tableau 11)

Les animaux de la série 37, série témoin, ne montrent aucune trace de régénération. Par contre, un manchon complet de peau non irradiée, où les quatre qualités, dorsale, ventrale, antérieure et postérieure, sont présentes, permet le développement d'une morphogenèse qui correspond, dans 132 cas sur 148 (90 %), à un membre à 4 doigts. L'examen des squelettes des membres régénérés révèle la présence d'un autopode normal, tandis que s'observe souvent une déficience de développement des éléments les plus proximaux de la partie régénérée (Fig. 34). Enfin, dans 3 cas sur 148, sont apparus des membres présentant un ou deux doigts surnuméraires (Fig. 35). L'orientation des régénérats est conforme dans la majorité des cas à celle du manchon de peau greffée (Pl. V, a, b, c, d ; Fig. 34). Parfois des torsions affectent l'orientation primitive du régénérat (Fig. 36). Mais aucun cas ne permet d'affirmer que l'orientation de la morphogenèse régénératrice n'est pas conforme à celle des greffons de peau.

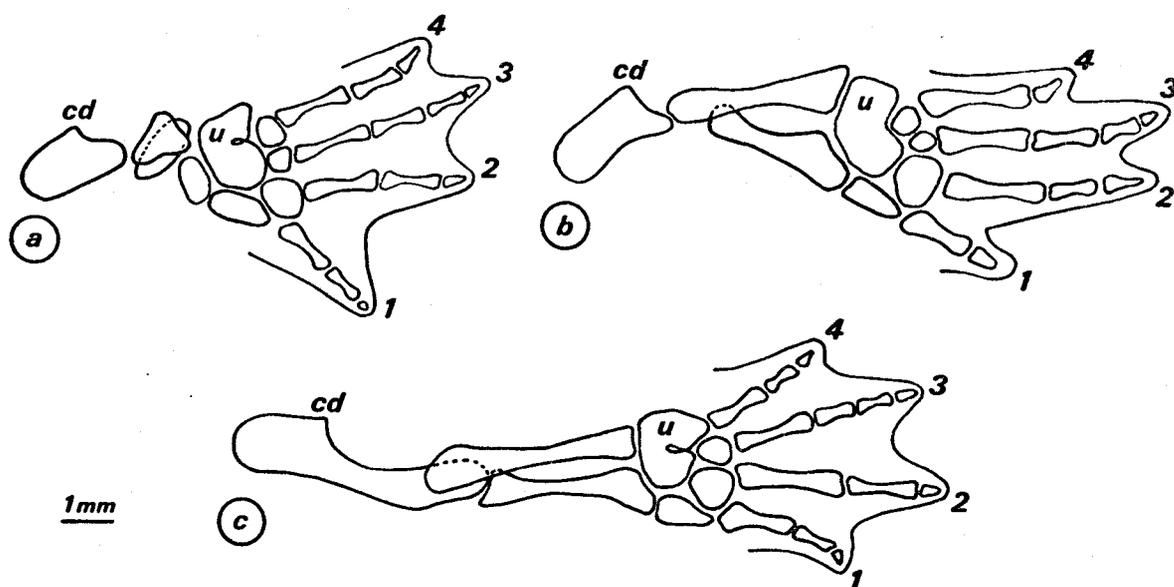


Fig. 34 - Trois degrés de développement des régénérats observés dans la série 33 (inversion des axes transversaux *d-v* et *a-p*).

a - Régénération de la main.

b - Régénération de la main et de l'avant-bras.

c - Régénération du membre complet.

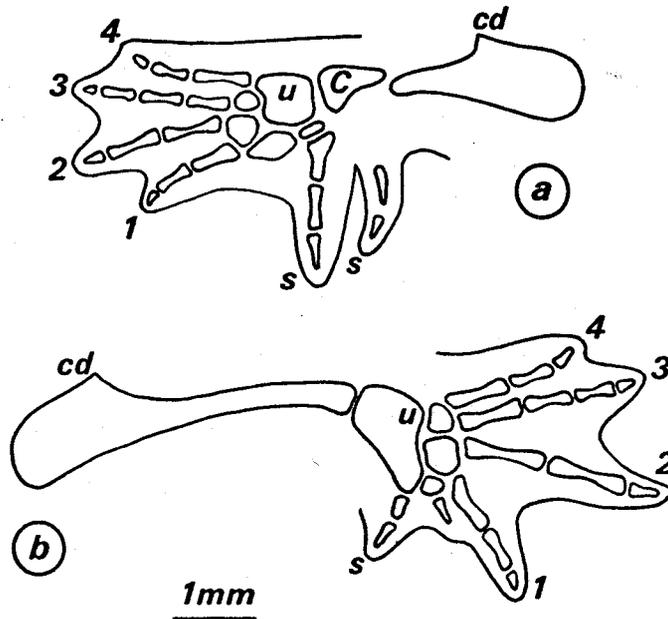


Fig. 35 - Membres à formations surnuméraires obtenus après greffe d'un manchon complet de peau (série 33).

- a - Vue ventrale d'un "régénérat" de 4 mois montrant 2 doigts surnuméraires.
- b - Vue dorsale d'un autre "régénérat" présentant un cinquième doigt sur le bord postérieur du membre.

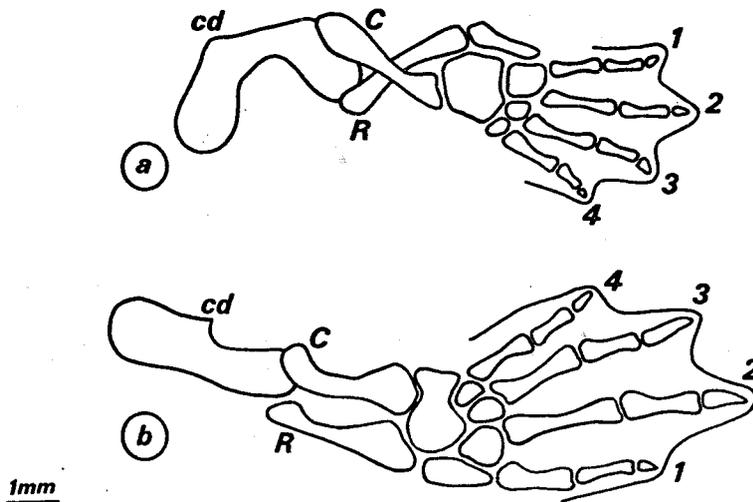
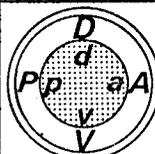
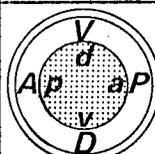
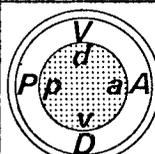
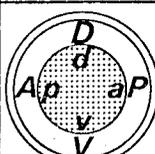
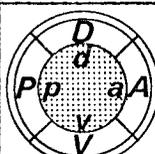
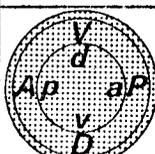


Fig. 36 - Orientations des régénérats de membres irradiés, obtenus à partir de manchons de peau à orientation a-p inversée par rapport à celle du membre receveur (série 35).

- a - L'ordre des doigts n'est pas inversé, tandis que la face palmaire est en position dorsale. Il s'agit d'un membre droit ayant l'asymétrie d'un membre gauche mais qui a subi une torsion de 180° comme en témoigne la position en croix des os du zeugopode.
- b - L'ordre des doigts est inversé et la face palmaire est ventrale. Il s'agit également d'un membre droit ayant l'asymétrie d'un membre gauche

C : cubitus ; cd : crête deltoïde ; R : radius ; u : ulnaire.

Tableau 11 - Régénération de membres irradiés après greffe de manchons de peau non irradiée (4 qualités).

Séries	Nb de cas	Degré de régénération						Squelettes des membres régénérés				Polarités antéro-postérieure et dorso-ventrale des membres régénérés			Indét.	
		Petit cône	Nombre de doigts					Phalanges + carpe	Phalanges + carpe + zeugopode distal	Phalanges + carpe + zeugopode complet	Squelette complet	Conformes à celles du greffon		non conformes à celles du greffon		
			1	2	3	4	Plus de 4					Pas de torsion	torsion de 90°			
32		28	1	1	2		23	1	1		1	25	23			4
33		46				1	43	2	2	7	8	29	34	9	1	2
34		24	1		1	1	21				1	22	22	1		
35		23		1			22		1	1		21	14	6	1	2
36		27			2	2	23			4	20	3	27			
Total		148	2 1 %	2 1 %	5 3 %	4 3 %	132 90 %	3 2 %	4 3 %	12 8 %	30 21 %	100 68 %				
37 opérés témoins		29	Aucune trace de régénération													

INS  
LILLE

- Discussion

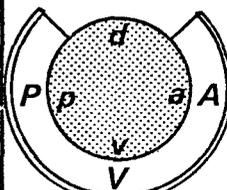
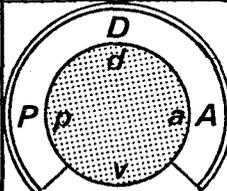
La comparaison des résultats des séries d'expériences 32 à 35 d'un côté, et de la série 36 de l'autre, nous autorise à dire que le développement est équivalent quand sont présentes, ou bien toutes les cellules de la périphérie du membre, ou bien les cellules correspondant aux quatre génératrices de qualités *d*, *v*, *a* et *p*. Des expériences équivalentes aux séries 32 à 35 ont été réalisées par UMANSKI (1937, 1938, 1939, 1946), LUTHER (1948), UMANSKI *et al* (1951), TRAMPUSCH (1951, 1958), RAHMANI et KIORTSIS (1961) et plus récemment par CARLSON (1974), DESHA (1974), NAMENWIRTH (1974), DUNIS et NAMENWIRTH (1976). Elles conduisent, le plus souvent, à la genèse d'un membre normal. L'influence de la rotation de 90 degrés de l'axe *pr-di*, sur la régénération sera discutée en fin de chapitre.

b) Présence de trois qualités de peau dans le greffon :  
séries 38 et 39

- Expériences (Tableau 12)

Dans ces deux séries, on greffe, non plus un manchon complet de peau, mais les trois-quarts d'un manchon, le quart manquant correspondant au secteur dorsal (série 38) ou au secteur ventral (série 39). Les tissus axiaux non recouverts de peau greffée sont rapidement recouverts d'épiderme cicatriciel dont nous n'avons pas établi l'origine.

Tableau 12 - Procédures expérimentales des séries 38 et 39 (Grefe des 3/4 d'un manchon de peau).

Séries	Greffon	Polarité des axes des greffons par rapport à celle des axes du membre porte-grefe			Qualités présentes	Surface d'amputation
		<i>d-v</i>	<i>a-p</i>	<i>pr-di</i>		
38	3/4 de manchon	conforme	conforme	inverse	<i>v, a, p</i>	
39	3/4 de manchon	conforme	conforme	inverse	<i>d, a, p</i>	

- Résultats (Tableau 13)

Les morphogènes obtenues après la greffe d'un manchon de peau dont le quart *d* ou *v* a été ôté correspondent à des membres à 3 ou 4 doigts dans 85 % des cas (Pl. V, e, f) alors que ce taux moyen était de 93 % lorsque les quatre qualités *d*, *v*, *a* et *p* étaient présentes dans la peau greffée. L'analyse des squelettes (Tableau 13, Fig. 37) révèle l'existence de structures normales mais aussi de nombreuses anomalies au niveau du zeugopode et du carpe quand la qualité *v* est absente dans le greffon. Le zeugopode est constitué d'un seul os dont il est difficile de dire s'il correspond au radius ou au cubitus, tandis que, bien souvent, le carpe forme un ensemble massif ce qui rend impossible la détermination de la polarité *a-p* du membre formé. Quand elles peuvent être déterminées, les polarités *a-p* et *d-v* des néoformations sont conformes à celles du greffon de peau. Dans la série 39, deux membres à doigts surnuméraires ont également été observés (Pl. V, g).

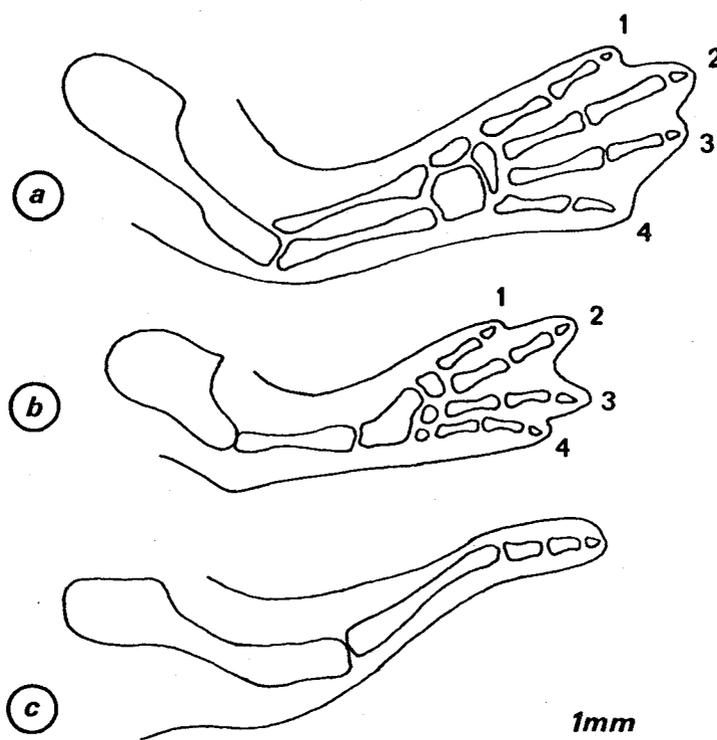
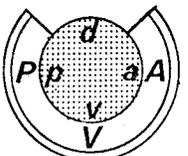
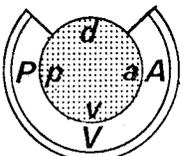
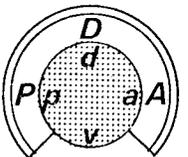


Fig. 37 - Squelettes des membres développés à partir de peau comportant 3 qualités.

- a - Membre normal de la série 38 (peau *p*, *v*, *a*).
- b - Membre à 4 doigts de la série 39 (peau *p*, *d*, *a*) présentant un zeugopode à 1 os et les os du carpe groupés en une masse.
- c - Membre hypomorphe à 1 doigt de la série 38.

Tableau 13 - Régénération de membres irradiés après greffe de 3/4 de manchon de peau non irradiée.

Séries		Nb de cas	Degré de régénération					Squelettes des membres régénérés				Polarités a-p et d-v			
			Nombre de doigts					Zeugopode et carpe incomplets	Zeugopode à 2 os, carpe incomplet	Zeugopode à 1 os carpe souvent massif	Zeugopode et carpe bien développés	a-p		d-v	
			1	2	3	4	Plus de 4					conforme	indét.	conforme	indét.
38		33	4	1	7	21		4	1		28	21	12	10	23
39		32		3	6	21	2	4		19	9	7	25	25	7
Total		65	4 6 %	4 6 %	13 20 %	42 65 %	2 3 %	8 12 %	1 1 %	19 29 %	37 57 %				

- Discussion

A l'exception de deux cas de membres à plus de quatre doigts de la série 39, pour lesquels nous n'avons pas d'explication à formuler, les prestations obtenues à partir de peau comportant trois des quatre qualités  $d$ ,  $v$ ,  $a$  et  $p$ , sont des membres normaux ou presque normaux. L'absence initiale de face  $d$  ou de face  $v$  n'empêche donc pas le développement normal du membre, ce qui sous-entend la régénération des faces absentes.

c) Deux qualités opposées de peau présentes dans le greffon :  
séries 40 à 42

- Expériences (Tableau 14)

Tableau 14 - Procédures expérimentales des séries 40 à 42 (Grefe de peau provenant de deux faces opposées).

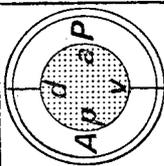
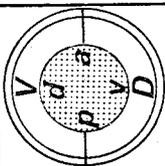
Séries	Greffon	polarités des axes des greffons par rapport à celles des axes du membre porte-grefe			Qualités présentes	Surface d'amputation
		$d-v$	$a-p$	$pr-di$		
40	bande de peau $d$ + bande de peau $v$	conforme		rotation 90 degrés	$d$ et $v$	
41	bande de peau $d$ + bande de peau $v$	inverse		rotation 90 degrés	$d$ et $v$	
42	bande de peau $a$ + bande de peau $p$		inverse	rotation 90 degrés	$a$ et $p$	

Des bandes de peau  $d$ ,  $v$ ,  $a$  ou  $p$  sont prélevées le long des génératrices sur le gras gauche non irradié. Des bandes de qualités opposées  $d$  et  $v$  (séries 40 et 41) ou  $a$  et  $p$  (série 42) sont greffées sur le membre droit irradié, après rotation de 90 degrés de leur axe  $pr-di$ , chacune formant un demi-manchon au niveau de l'amputation du membre receveur (Fig. 38).



Tableau 15 - Régénération des membres irradiés après greffe de deux qualités opposées de peau non irradiée.

Séries	Nb de cas	Régénération						Squelettes				Orientation				
		Petit Membre cône	Nombre de doigts				Phalanges + quelques éléments osseux	Phalanges + 2 ou 3 masses bout à bout	Stylo-pode, zeugopode et autopode présents		Polarité d-v			Polarité a-p		
			1	2	3	4			Plus de 4	Zeugopode à 1 os	Zeugopode à 2 os	norm.	invers.	indét.	norm.	invers.
40	23		1	2	5	6	5	3	9	8	3	7	13	20		
41	27				8	9	6	1	2	7	6	9	16	7	3	17
42	32			2	5	4	13	8	2	3	15	12	5	7	2	5
Total	79	3 4 %	1 1 %	4 5 %	18 22 %	19 24 %	24 30 %	12 15 %	4 5 %	19 24 %	29 37 %	24 30 %				



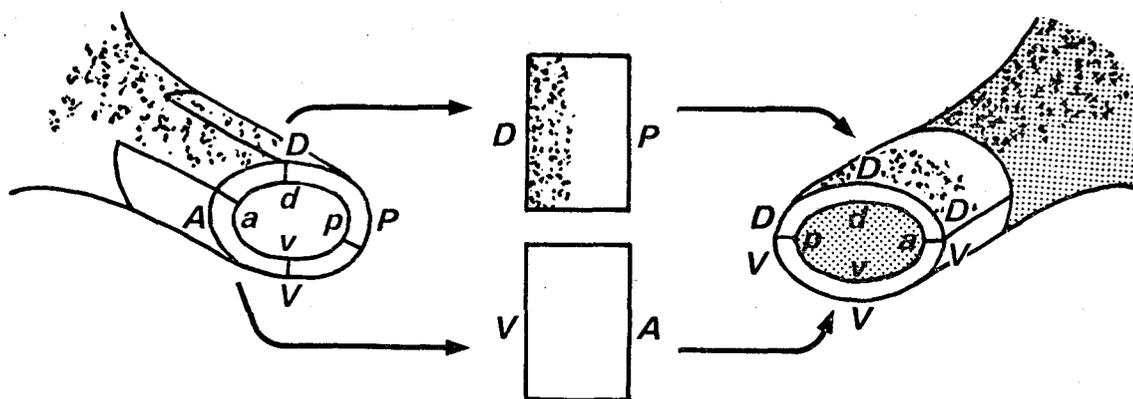


Fig. 38 - Schéma explicatif de la procédure expérimentale de la série 40.

En grisé, les tissus irradiés, en blanc les tissus non irradiés.  
*D, V, A, P* et *d, v, a, p* : les qualités dorsale, ventrale, antérieure et postérieure respectives de la peau et des tissus internes.

- Résultats (Tableau 15)

Quand on associe deux bandes de peau affectées des qualités *d* et *v* ou *a* et *p*, la néoformation qui apparaît présente des degrés variables de développement. L'absence de régénération s'observe dans 4 % des cas. Les prestations à un ou deux doigts représentent 27 % des cas. Enfin, 70 % des régénérats correspondent à des membres à trois, quatre ou plus de quatre doigts (Pl. V, h à l). Les squelettes de ces membres sont parfois normaux (Pl. VI, a ; Fig. 39, a) mais souvent le zeugopode est incomplet et le tarse se présente sous une forme massive (Fig. 39, b).

Les membres à formations surnuméraires sont des mains élargies présentant 5 ou 6 doigts (Pl. V, l, VI, a) mais sur l'un d'entre eux cependant, on observe deux mains distinctes (série 42).

L'orientation *d-v* des formations obtenues est conforme à celle des greffons de peau dans les séries 40 et 41 tandis que l'orientation *a-p* de ces membres semble s'établir au hasard. Dans la série 42, l'orientation des axes *d-v* et *a-p* est très variable. La face palmaire peut être en position dorsale ou ventrale (Pl. V, j, k). Plusieurs mains semblent présenter deux faces dorsales, également pigmentées. L'orientation *a-p* est parfois conforme à celle

du greffon de peau (Pl. V, k) mais on note deux membres dont l'orientation *a-p* est conforme à celle du membre irradié (Pl. V, j). Souvent les mains semblent avoir subi une torsion de 90 degrés et nous les avons classées avec celles dont les axes n'ont pas pu être déterminés.

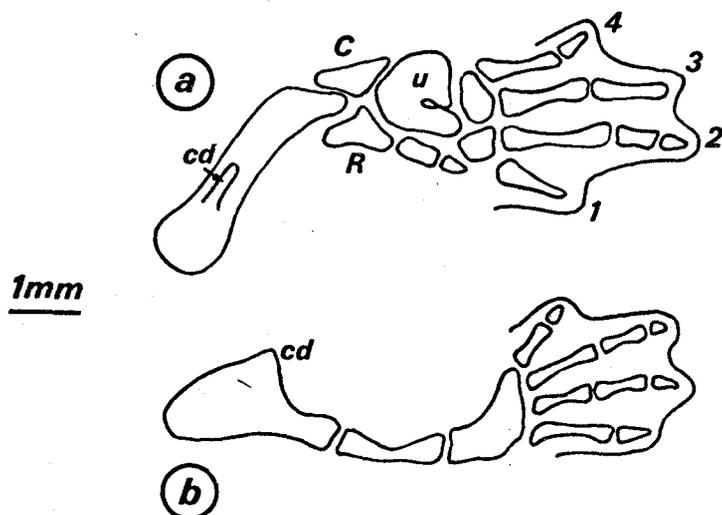


Fig. 39 - Régénérats obtenus après greffe de peau comportant 2 qualités opposées.

- a - Squelette de membre droit de la série 41 montrant la face dorsale de la main. Sa latéralité est celle d'un membre gauche.
- b - Squelette de membre de la série 40, qui montre 4 doigts mais un zeugopode à 1 os et les os du carpe soudés en une masse.

#### - Discussion

##### § Degré de développement

Un manchon complet de peau de bras permet la formation, dans 95 % des cas, d'un membre normal ou presque normal. Par contre l'association de peau provenant de deux faces opposées donne naissance à 54 % de membres à 3 ou 4 doigts auxquels s'ajoutent 15 % de membres à plus de 4 doigts. Malgré cette différence observée dans les résultats, nous pouvons conclure que l'association de peau de deux qualités opposées est une condition suffisante pour la création d'un centre morphogénétique normal. Ceci est conforme à notre hypothèse selon laquelle un contact de tissus de deux faces opposées permet d'induire le développement d'un membre surnuméraire.

##### § Membres à plus de quatre doigts

Il est surprenant de constater que la néoformation est parfois plus développée que le membre normal comme s'il y avait un

un dédoublement du centre morphogénétique créé par l'association des tissus de faces opposées. Bien que nous ignorions les modalités précises de la cicatrisation les seules possibilités extrêmes nous semblent être telles (Fig. 40) qu'un manchon complet de peau ne peut donner naissance qu'à un membre simple

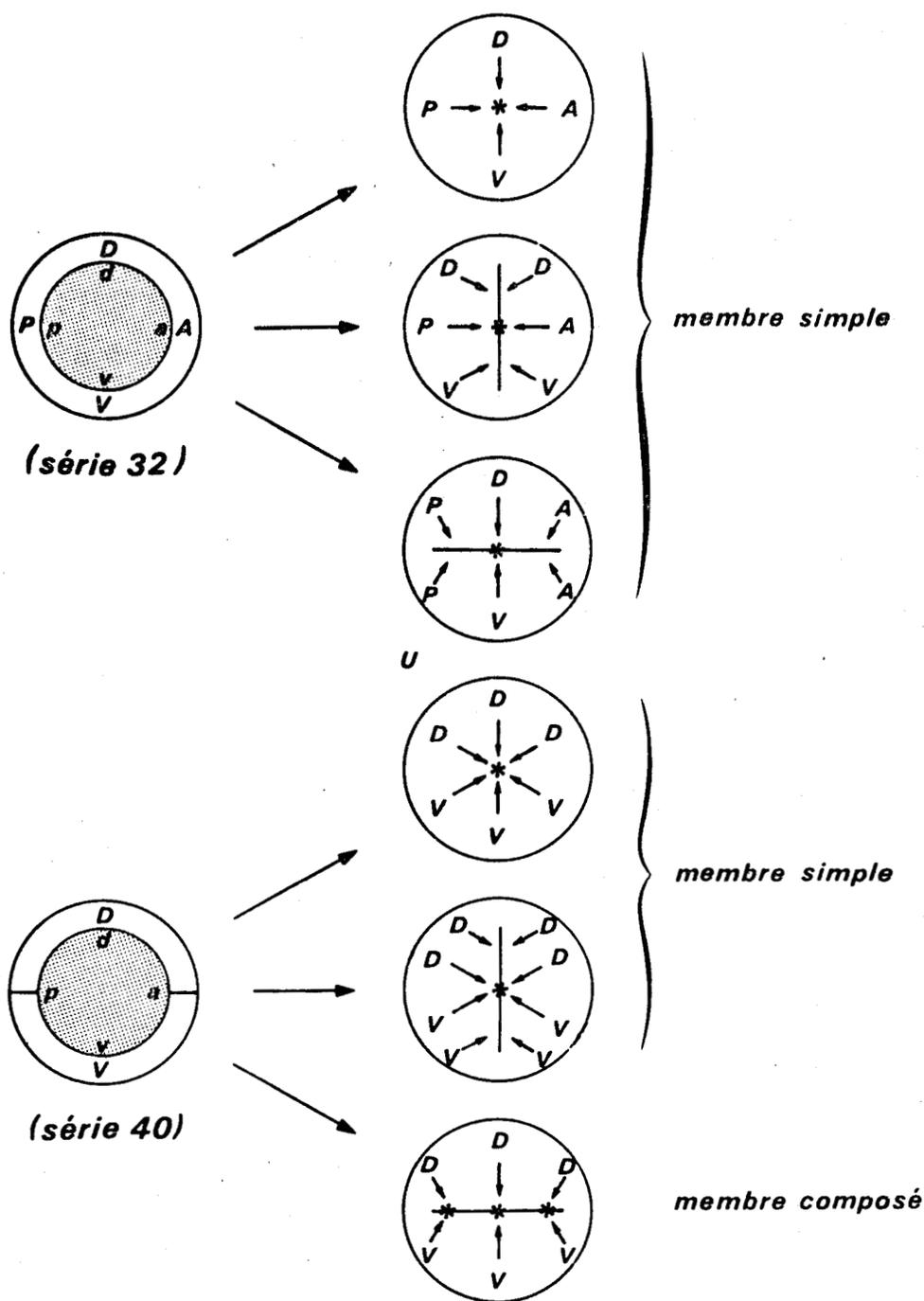


Fig. 40 - Présentation de trois modèles hypothétiques selon lesquels les tissus de faces opposées pourraient entrer en contact. Le troisième modèle rendrait compte du développement des membres à formations surnuméraires des séries 40 à 42.

alors que l'interaction des tissus de faces opposées, provenant de deux demi-manchons au lieu de se focaliser en une zone pourrait s'étendre suivant une bande (par exemple dans la série 40, du bord  $a$  au bord  $p$  du moignon) et permettre ainsi la formation de deux centres morphogénétiques voisins.

#### § Orientation

L'orientation des axes transverses du membre néoformé est fonction de la position relative des tissus greffés. Dans l'exemple de la série 40, seul l'axe  $d-v$  est défini. Pour la mise en place de l'axe  $a-p$ , tout se passe comme si elle se faisait au hasard. En réalité chaque point de la peau de qualité  $d$  ou  $v$  est également situé au sein d'un gradient  $a-p$  (Fig. 41). En l'absence des tissus de qualités  $a$  et  $p$ , les greffons  $d$  et  $v$  de peau expriment leur tendance  $a$  ou  $p$  selon qu'ils sont plus ou moins affectés par l'une ou l'autre de ces qualités.

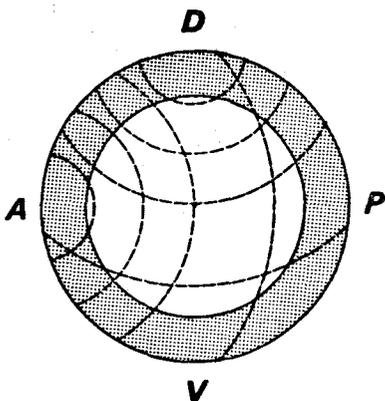


Fig. 41 - Coupe transversale schématique d'un membre.

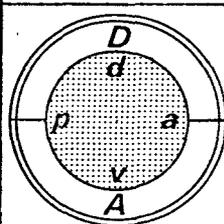
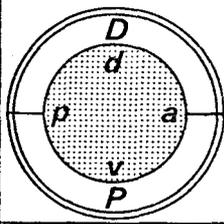
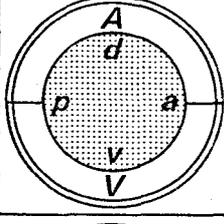
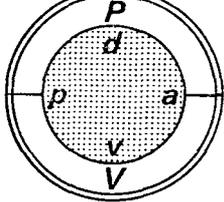
Entre deux points opposés de qualités  $d$  et  $v$  par exemple, il doit exister un gradient  $d-v$  qui croît ou décroît régulièrement en affectant aussi bien la peau (en grisé) que les tissus axiaux. Un deuxième gradient perpendiculaire au premier correspond ici au gradient  $a-p$ . En grisé, la peau, en blanc les tissus axiaux.

#### d) Deux qualités non opposées de peau présentes dans le greffon : séries 43 à 46

##### - Expériences (Tableau 16)

Deux bandes de peau prélevées sur le membre gauche non irradié sont disposées selon deux demi-manchons autour des tissus axiaux du moignon d'amputation du bras droit irradié. L'axe  $pr-di$  de la peau greffée a donc pivoté de 90 degrés. L'une des bandes est axée sur la face

Tableau 16 - Procédures expérimentales des séries 43 à 46 (Greffe de peau provenant de deux faces non opposées).

Séries	Greffon	Polarité <i>pr-di</i> du greffon par rapport à celle du membre porte-greffe	Qualités présentes	Surface d'amputation
43	bande de peau <i>d</i> + bande de peau <i>a</i>	Rotation 90 degrés	<i>d</i> et <i>a</i>	
44	bande de peau <i>d</i> + bande de peau <i>p</i>	Rotation 90 degrés	<i>d</i> et <i>p</i>	
45	bande de peau <i>v</i> + bande de peau <i>a</i>	Rotation 90 degrés	<i>v</i> et <i>a</i>	
46	bande de peau <i>v</i> + bande de peau <i>p</i>	Rotation 90 degrés	<i>v</i> et <i>p</i>	

*d* et l'autre sur la face *v* (Fig. 42). Dans les séries 43 à 46, les associations des bandes de peau de qualités non opposées sont respectivement de qualités *d* et *a*, *d* et *p*, *v* et *a*, *v* et *p*.

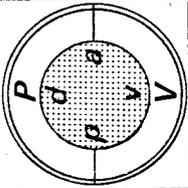
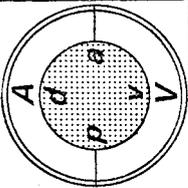
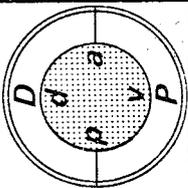
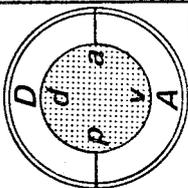
- Résultats (Tableau 17)

Les résultats étant comparables dans les diverses séries, nous en ferons une analyse globale. A un pourcentage de 47 % de membres à 3 ou 4 doigts (Pl. VI, b) s'ajoutent 14 % de membres à plus de 4 doigts (Pl. VI, h). Les autres cas correspondent à des membres faiblement développés (Pl. VI, c) ou non développés (Pl. VI, g). L'examen des squelettes (Pl. VI, d, e ; Fig. 43) révèle que beaucoup de membres présentent en plus des doigts, un carpe et un zeugopode différenciés. Sur les 118 membres opérés, 54 entrent dans cette catégorie et parmi eux 31 ont un zeugopode à deux os bien différenciés.

Tableau 17 - Néoformations développées après greffe de bandes de peau de deux faces opposées.  
non

Séries	BUS LILLE	Nb de cas	Morphogénèses néoformées				Ni zeugopode ni carpe différenciés	Squelettes					Orientation $\sigma$ - $\rho$		
			Absent	Présentes Nombre de doigts				Zeugopode + carpe + doigts			Plusieurs mains (zeugo. = 2 os)	Conforme	inverse		
				1	2	3		4	Plus de 4	3 ou 4 doigts Zeugo. 2 os				5 ou 6 doigts Zeugo. 1 os	Zeugo. 2 os
43		31	3	1	5	10	7	5	12	7	6	3	3	3	1
44		28	1	2	2	8	10	5	9	7	6	5	5	2	2
45		28	5	4	2	5	10	2	11	5	5	1	3	3	3
46		31	9	7	4	3	3	5	12	2	3	2	2	3	2
Total		118	18 15%	14 12%	13 11%	26 22%	30 25%	17 14%	44 37%	21 18%	20 17%	1 1%	9 8%	3 3%	

BUS  
LILLE



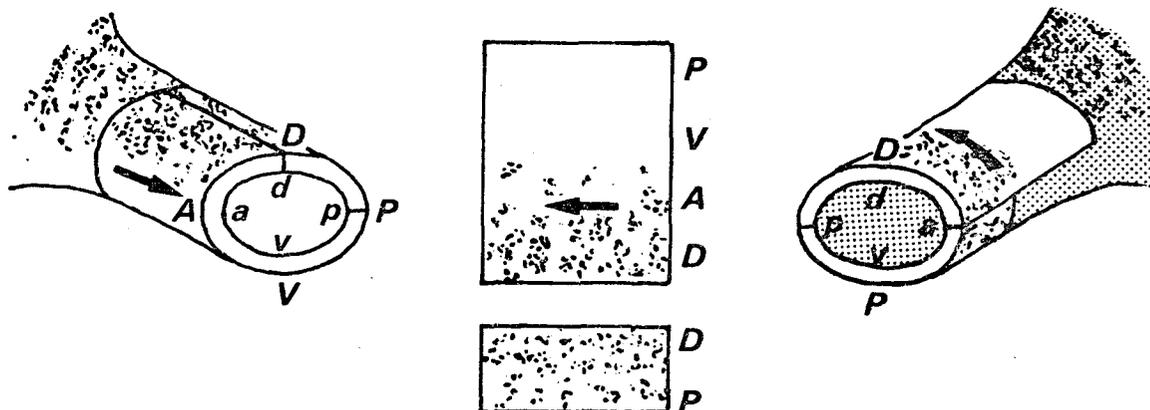


Fig. 42 - Procédure expérimentale relative à la série 44.

Les flèches rappellent l'orientation proximo-distale de la peau greffée. En grisé : tissus irradiés ; en blanc : tissus non irradiés.

Le plan  $a-p$  des mains formées correspond le plus souvent à celui du membre porte-greffe, mais dans quelques cas le plan de la main régénérée est situé à 90 degrés par rapport à celui du membre porte-greffe (série 43 : 1 cas ; série 44 : 6 cas ; série 45 : 4 cas). Quand ce plan  $a-p$  correspond à celui du membre porte-greffe et que la main est suffisamment développée, l'orientation  $a-p$  est tantôt conforme, tantôt inverse de celle du membre porte-greffe. L'orientation  $d-v$  de ces membres, lorsqu'elle peut être déterminée est conforme à celle du membre porte-greffe. Parmi les 11 régénérats où le plan  $a-p$  est à 90 degrés par rapport au plan  $a-p$  du porte-greffe, la polarité  $a-p$  n'a pu être définie avec certitude que dans 3 cas dans la série 44 et 1 cas dans la série 45. L'axe  $a-p$  de ces mains se superpose à l'axe  $d-v$  du membre receveur.

#### - Discussion

Les pourcentages de néoformations ayant la structure d'un membre normal ou presque normal sont de 67 % quand on associe des bandes de peau de deux faces opposées, et de 47 % quand on associe des bandes de peau de deux faces non opposées.

A notre connaissance, des expériences équivalentes n'ont pas été réalisées à ce jour. Nous discuterons en fin de chapitre de ces résultats en fonction du nombre et de la position des qualités de peau nécessaires à la morphogenèse d'un membre normal.

Le plan  $a-p$  des néoformations se superpose tantôt au plan  $a-p$ , tantôt au plan  $d-v$  du membre irradié porte-greffe. Quand le plan  $a-p$  de la main se superpose au plan  $a-p$  du membre porte-greffe, l'orientation  $a-p$  peut être conforme ou non à celle du membre porte-greffe, c'est-à-dire qu'elle semble

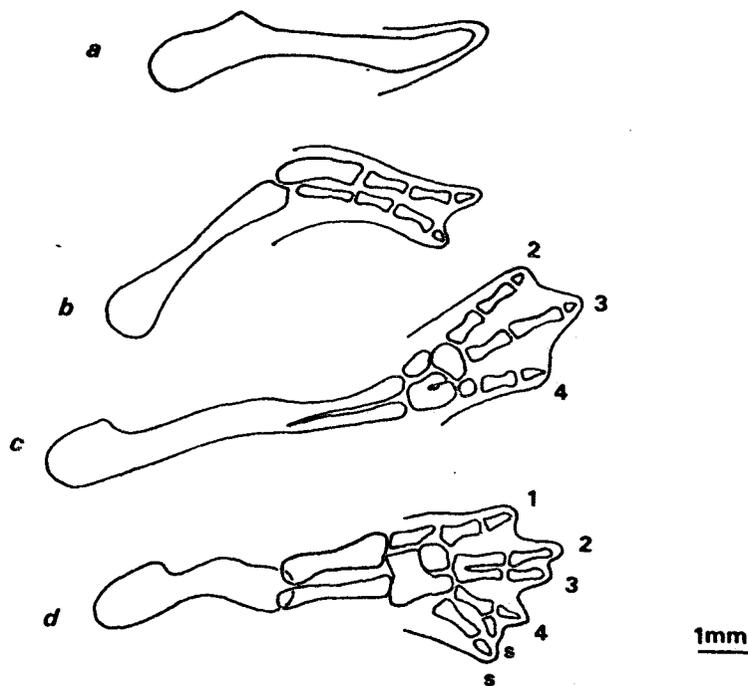


Fig. 43 - Squelettes de membres formés sur un moignon de membre irradié à partir de peau greffée provenant des faces non opposées *d* et *p* (série 44).

- a - Prestation digitiforme : seul l'humérus est présent.
- b - Prestation bifurquée sans zeugopode ni carpe différenciés.
- c - Main structurée à 3 doigts.
- d - Main structurée élargie à deux doigts surnuméraires *s*.

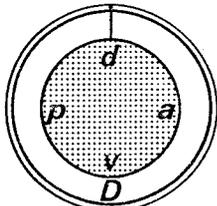
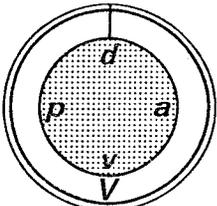
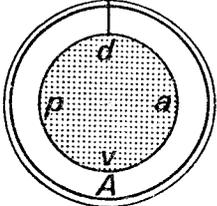
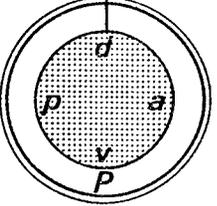
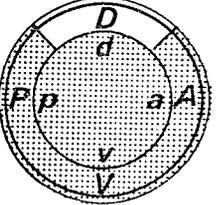
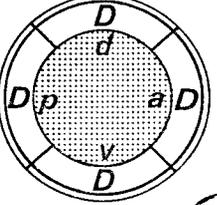
s'établir au hasard. Par contre l'orientation *a-p* des mains situées dans le plan *d-v* du membre receveur semble déterminée par la position des greffons de peau de qualité *p* (ventrale dans la série 44) ou de qualité *a* (dorsale dans la série 45). En résumé, tantôt le greffon de peau *d* ou *v* impose la polarité *d-v* à la néoformation et l'axe *a-p* semble alors établi au hasard, tantôt le greffon de peau *a* ou *p* impose la polarité *a-p* à la néoformation, l'axe *d-v* pourrait être établi au hasard, ce que nous n'avons pas pu déterminer.

e) Une qualité présente dans la peau greffée :  
séries 47 à 52

- Expériences (Tableau 18)

Les fragments de peau greffés des séries 47 à 50 sont des bandes découpées sur une face du membre, suffisamment longues pour être greffées en manchon au niveau du moignon d'amputation du membre droit irradié, après rotation de 90 degrés de l'axe *pr-di* de ces bandes (Fig. 44).

Tableau 18 - Procédures expérimentales des séries 47 à 52 (Grefe de peau provenant d'une face).

Séries	Greffon	Polarité <i>pr-di</i> du greffon par rapport à celle du membre porte-grefe	Qualité présente	Surface d'amputation
47	bande de peau <i>d</i>	Rotation 90 degrés	<i>d</i>	
48	bande de peau <i>v</i>	Rotation 90 degrés	<i>v</i>	
49	bande de peau <i>a</i>	Rotation 90 degrés	<i>a</i>	
50	bande de peau <i>p</i>	Rotation 90 degrés	<i>p</i>	
51	secteur de peau <i>d</i>	Conforme	<i>d</i>	
52	bande de peau <i>d</i> coupée en 4	Conforme	<i>d</i>	

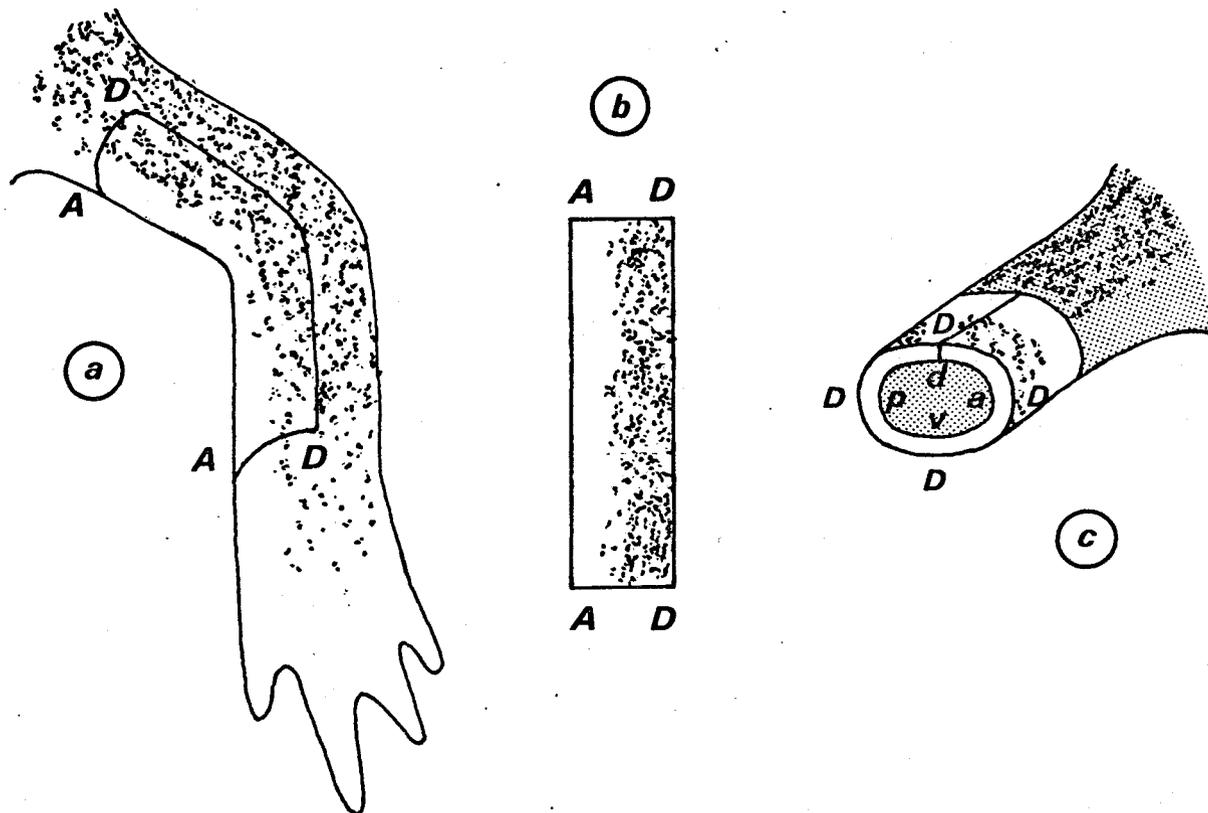


Fig. 44 - Schéma explicatif de la procédure expérimentale de la série 47.

- a - Membre gauche donneur non irradié.
- b - Bande de peau prélevée sur le membre donneur.
- c - Membre droit irradié sur le moignon duquel on remplace un manchon de peau irradiée par la bande prélevée sur le membre gauche. La génératrice dorsale est amenée au niveau du front d'amputation.

Dans les séries 51 et 52, ce ne sont plus des bandes de peau mais des secteurs de peau dorsaux correspondant à un quart de manchon. L'orientation de leur axe *pr-di* n'est pas modifiée. Dans la série 51 le secteur est uniquement présent à la face dorsale. Dans la série 52, quatre secteurs dorsaux couvrent les quatre faces du moignon (Fig. 45).

- Résultats (Tableau 19)

La greffe de peau d'une qualité a pour résultat une absence fréquente de morphogénèse. Des prestations peuvent apparaître mais leur degré de développement reste faible (Pl. VI, i, j, k). Rares sont les néoformations qui présentent 2 ou 3 doigts. Elles apparaissent quand on greffe de la peau dorsale ou antérieure. L'examen des squelettes révèle l'absence de structure normale de membre (Fig. 46). On observe

209  
1960

Tableau 19 - "Régénération" de membres irradiés après greffe de peau d'une seule qualité.

Séries		Nb de cas	Degré de développement			
			Pas de régénération	Début de régénération Quelques éléments de squelette	2 à 3 doigts ni carpe ni zeugopode différenciés	3 doigts + carpe et zeugopode ?
47		43	18	17	8	
48		24	7	17		
49		33	15	13	4	1
50		33	29	4		
51		38	10	18	8	
52		30	9	16	5	
Total		201	88 44 %	85 43 %	25 13 %	1 0,5 %

BUS LILLE

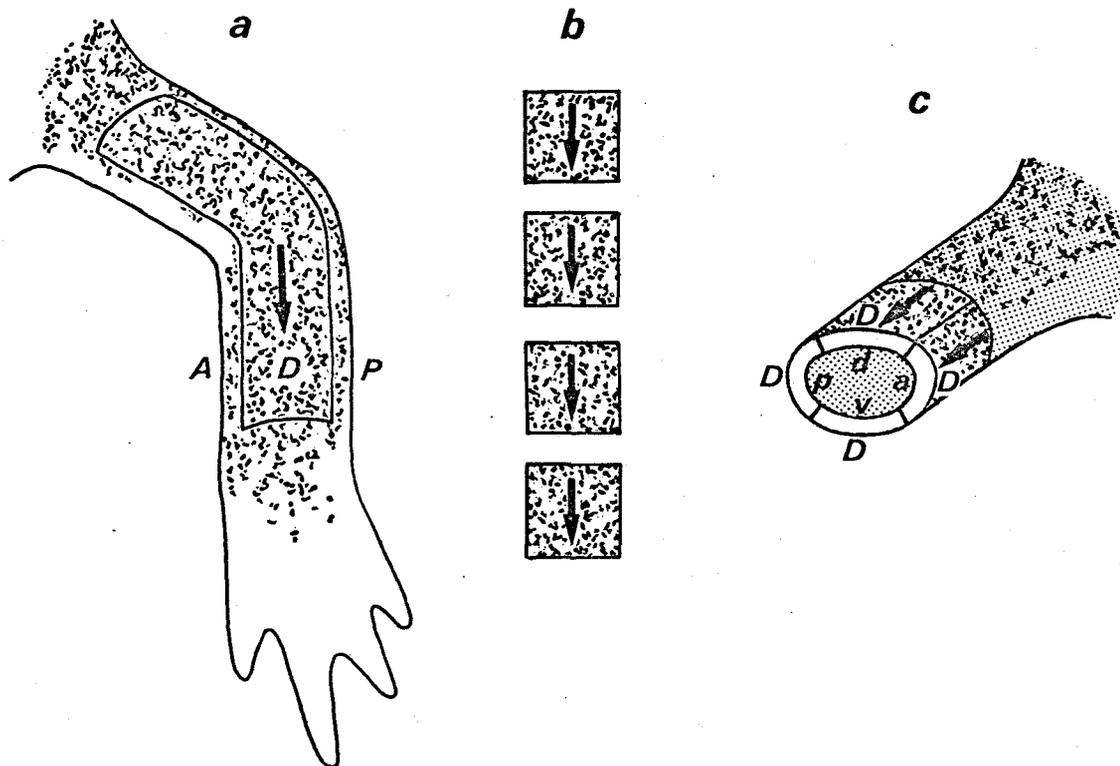


Fig. 45 - Schéma explicatif de la procédure expérimentale de la série 52.

- a - Membre gauche non irradié sur lequel est prélevée une bande dorsale de peau.
- b - La bande de peau est fractionnée en 4 carrés.
- c - Chacun d'eux est greffé sur le membre droit irradié de sorte que l'orientation proximo-distale du greffon soit conforme à celle du membre porte-greffe.

*D, V, A, P* et *d, v, a, p* : qualités dorsale, ventrale, antérieure et postérieure de la peau et des tissus internes. La flèche indique le sens proximo-distal. Les tissus irradiés sont en grisé.

quelques éléments de squelettes disposés bout à bout. La formation la plus développée (Fig. 46, d) est formée de 3 doigts supportés par deux éléments cartilagineux qu'on peut assimiler l'un au carpe, l'autre au zeugopode.

#### - Discussion

La greffe de peau non irradiée provenant d'une seule face sur un moignon d'amputation de membre irradié ne permet pas le développement normal de membre. Cette absence de morphogenèse normale se produit avec de la peau dorsale ayant ou non subi lors de sa greffe, une rotation de 90 degrés de son axe proximo-distal. UMANSKI *et al.* (1951)

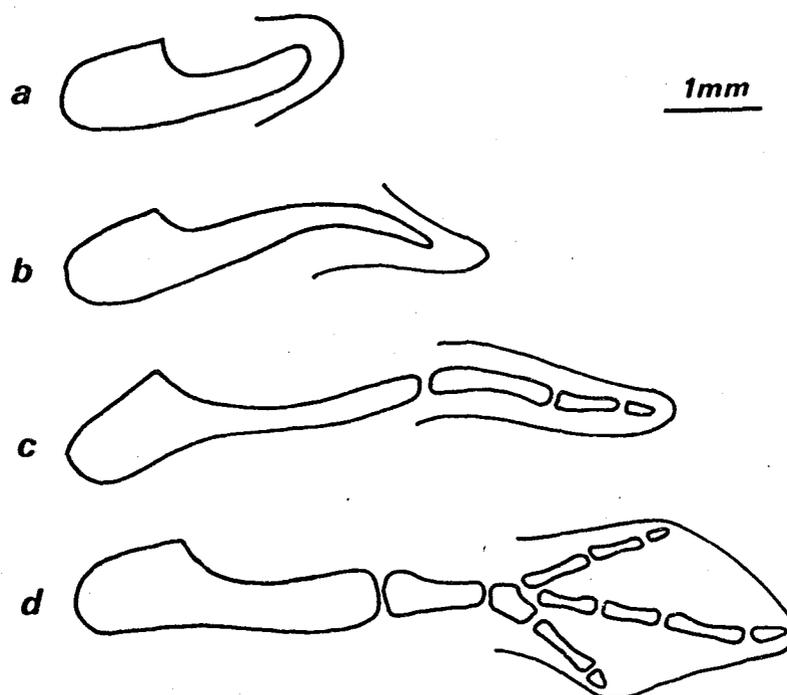


Fig. 46 - Squelettes des membres droits irradiés sur le moignon desquels a été greffée une bande de peau dorsale non irradiée. Les squelettes a, b et c correspondent à la majorité des cas obtenus. Le squelette d montre le régénérat de plus développé obtenu dans l'ensemble des séries 47 à 52.

ayant réalisé l'expérience que nous avons reproduite dans la série 47, avaient obtenu des résultats équivalents aux nôtres et supposaient que la rotation de la peau de 90 degrés empêchait l'accumulation des cellules du derme sous l'épiderme cicatriciel. CARLSON (1974) a également répété cette expérience, trouvé des résultats semblables, mais il n'a pas expliqué l'absence de croissance morphogénétique autrement que par l'influence de la position particulière de la peau sur les processus de régénération. Notre hypothèse est que l'absence de régénération ou la régénération hypotypique dans les séries 47 à 52 est liée à la présence d'une seule qualité, *d*, *v*, *a* ou *p*. Le rôle de la rotation de 90 degrés de l'axe *pr-di* sera discuté en fin de chapitre. Peuvent être rattachées à ces expériences celles de CONN *et al.* (1971). Ces auteurs réussissent à induire la régénération de membres irradiés amputés en réalisant une incision de la peau allant du moignon irradié jusqu'à l'épaule non irradiée. De tels résultats nous ont amené à répéter ces expériences (LHEUREUX, 1975 b), mais nos résultats, non conformes à ceux obtenus par CONN *et al.*, sont par contre en parfait accord avec ceux de nos séries 47 à 52. Nous n'avons en effet, pas observé de régénération à partir du moignon irradié.

2 - GREFFE DE PEAU DE FLANC - SERIE 53

Cette expérience est réalisée afin de vérifier la neutralité de ce tissu dans la morphogenèse régénératrice du membre.

- Expérience

Autour du moignon d'amputation du bras droit irradié, on greffe une bande de peau de flanc dorsal du même animal.

- Résultats

Aucune prestation correspondant à un membre n'est apparue. Au plus s'est-il formé une petite excroissance.

- Discussion

L'absence de développement de néoformations à la suite de la greffe de peau de flanc sur le moignon d'amputation d'un membre irradié, traduit la neutralité morphogénétique de ce tissu. Des résultats semblables ont été mis en évidence par UMANSKI (1938), LUTHER (1948), et TRAMPUSCH (1958). Toutefois LAZARD (1959, 1967) a obtenu environ 20 % de régénérations plus ou moins complètes de membres irradiés après avoir transplanté de la peau de ventre chez l'Axolotl. On peut supposer que le membre receveur, probablement insuffisamment irradié, n'était pas morphogénétiquement neutre.

Rappelons que les résultats de cette série 53 confirment la neutralité de la peau de flanc mise en évidence dans la série 30 où elle se montrait incapable de produire des formations surnuméraires.

B - POTENTIALITÉS MORPHOGÉNÉTIQUES DU DERMES ET DE L'ÉPIDERME

La peau a une action certaine dans la morphogenèse régénératrice du membre de Pleurodèle. Recherchons si chacun de ses éléments, épiderme et derme, possède les mêmes potentialités morphogénétiques que la peau.

SERIES 54 A 56

1- Expériences (Tableau 20)

Série 54 - Un manchon de derme de bras gauche est greffé sur le moignon d'amputation du bras droit irradié, avec inversion  $\alpha$ - $p$ .

L'épiderme, isolé du derme par l'EDTA ou par la trypsine n'adhère ni au derme qu'il recouvrait, ni aux tissus internes. Pour cette raison, les potentialités morphogénétiques de l'épiderme ont été

Tableau 20 - Procédures expérimentales des séries 54 à 56  
(Grefe de derme et d'épiderme).

Séries	Greffon	Polarités des axes des greffons par rapport à celles du membre porte-grefe			Surface d'amputation
		<i>d-v</i>	<i>a-p</i>	<i>pr-di</i>	
54	manchon de derme de bras	conforme	inverse	conforme	
55	derme de flanc + épiderme de bras	conforme	inverse	conforme	
56	derme + épiderme de bras	inverse conforme	conforme inverse	conforme conforme	

recherchées, de façon indirecte, à partir des expériences suivantes.

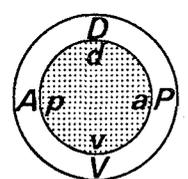
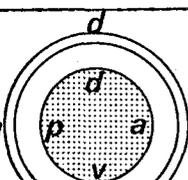
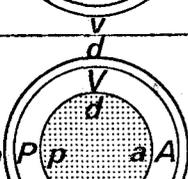
Série 55 - Dans un premier temps, une bande de derme de flanc dorsal est greffée en manchon autour du bras gauche non irradié. Après recouvrement par de l'épiderme de membre, il est greffé 4 à 5 jours plus tard sur le moignon d'amputation du membre droit irradié.

Série 56 - On fait subir au derme du bras gauche une rotation sur place de 180 degrés. Après recouvrement par l'épiderme, le manchon est greffé sur le bras droit irradié de sorte qu'il y ait une inversion de l'orientation *a-p* de l'épiderme et une inversion de l'orientation *d-v* du derme.

## 2 - Résultats (Tableau 21)

Ces résultats démontrent la capacité du derme du bras à former un membre (Fig. 47, a, c). La latéralité de ces membres correspond à celle du derme du membre donneur (Pl. VI, m). Le degré de développement des membres dans les séries 54 et 56 correspond à celui obtenu après la greffe de manchon de peau. Par contre l'épiderme n'impose pas son orientation quand il est associé au derme

Tableau 21 - Potentialités morphogénétiques du derme et de l'épiderme.

Séries		Nb de cas	Pas de régénération	Formation conique ou digitiforme	Membres simples		
					2 doigts	3 doigts	4 doigts
54		41		10	6	7	18
55		33	25	8			
56		25			4	6	15

(série 56) et ne peut, seul, assurer une morphogénèse (série 55) (Pl. VI, ] ; Fig. 47 b).

### 3- Discussion

Les potentialités morphogénétiques de la peau peuvent donc être attribuées au derme. Ces conclusions recourent celles de CARLSON (1975 b) qui obtint également la régénération des membres irradiés chez l'Axolotl à partir de greffes de manchons de derme. Nos résultats confirment également le caractère neutre des tissus de flanc des larves de Pleurodèle.

ROSE *et al.* (1955) ont obtenu la régénération de membres irradiés à partir de greffe d'épiderme. De l'épiderme de cicatrisation de queue (GLADE, 1963) ou de membre (TANK, 1977) greffé sur un moignon dépourvu de peau provoque le développement de prestations, mais des contrôles histologiques des greffons ont révélé la présence de cellules

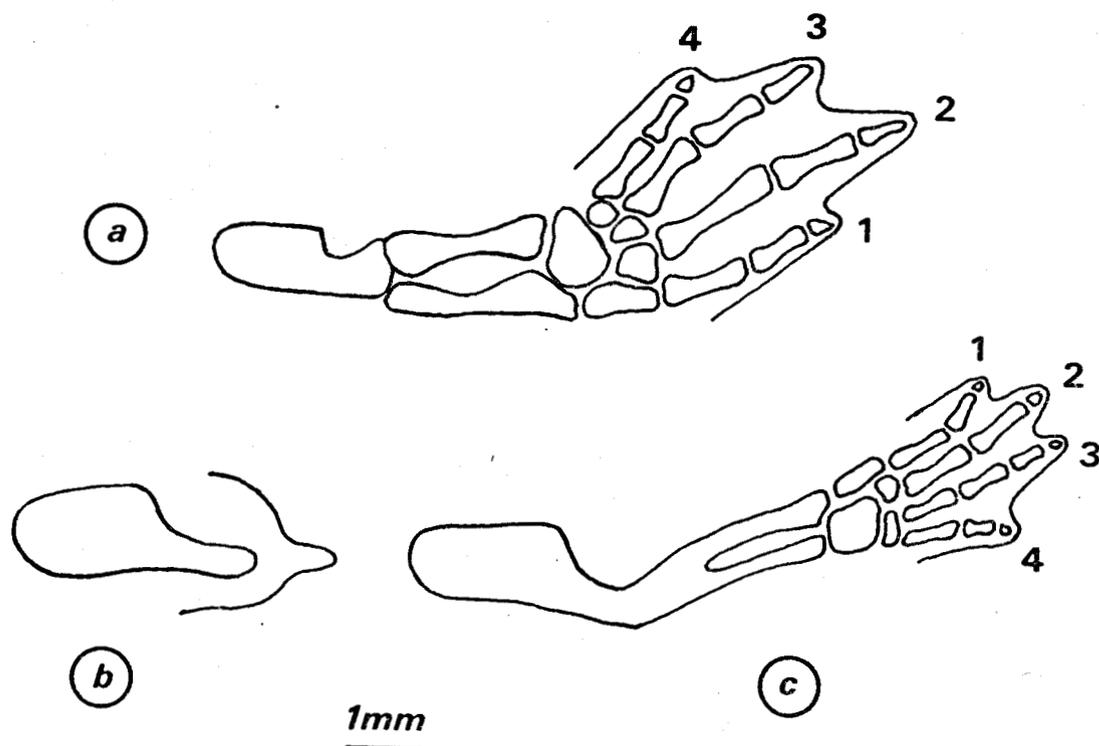


Fig. 47 - Développement des morphogénèses à partir des greffons de derme et d'épiderme de membre sur un membre irradié.

- a - Membre simple droit (série 54) montrant une inversion de la polarité *a-p*.
- b - Le squelette de membre (série 55) correspond à un humérus proximal. La petite pointe "régénérée" n'est pas soutenue par un squelette cartilagineux.
- c - Squelette de membre droit simple à orientation *a-p* conforme à celle du derme greffé (série 56).

dermiques associées à l'épiderme. Par contre, NAMENWIRTH (1974) n'observe pas la régénération de membres irradiés après la greffe d'épiderme non irradié, résultat qui prouve, avec les nôtres, que l'épiderme seul est incapable de provoquer la régénération de membres irradiés.

Enfin, l'épiderme de membre de triton en régénération ne peut imposer son orientation *d-v* au membre formé, à la différence de l'épiderme de l'ébauche de membre de Poulet (PAUTOU et KIENY, 1973 ; MAC CABE *et al.*, 1974).

C - POTENTIALITÉS MORPHOGÉNÉTIQUES DU TISSU MUSCULAIRE

L'analyse des potentialités morphogénétiques du tissu musculaire a été faite, comme pour la peau, à partir des résultats d'expériences de greffes de fragments de muscle sur le moignon d'amputation d'un membre irradié.

SERIES 57 A 61

1- Expériences (Tableau 22)

Tableau 22 - Procédures expérimentales des séries 57 à 61 (Greffes de fragments de muscles).

Séries	Greffon	Polarité de l'axe <i>d-v</i> du greffon par rapport à celle du porte-greffe	Qualités présentes	Surface d'amputation
57	muscles <i>d</i> et <i>v</i> de bras	conforme	<i>d</i> et <i>v</i>	
58	muscle <i>v</i> de bras		<i>v</i>	
59	muscle <i>d</i> de bras		<i>d</i>	
60	muscle <i>d</i> coupé en 2		<i>d</i>	
61	muscle de flanc			

Sous la peau du moignon d'amputation du bras droit irradié sont transplantés, associés, des fragments de muscles dorsaux et ventraux de bras (série 57). Des fragments de muscles dorsaux ou ventraux sont également greffés seuls (séries 58, 59 et 60). La série 61 correspond à la greffe de muscle de flanc dorsal.

## 2- Résultats (Tableau 23)

Les résultats se regroupent en trois ensembles. Les membres de la série 57 où deux qualités *d* et *v* sont présentes dans le moignon d'amputation, sont, en règle générale, bien développés. On observe des membres normaux (Pl. VI, o) et des membres à nombreux doigts (Pl. VI, n). Dans 18 cas sur 28 le squelette des membres est normalement constitué (Fig. 48, a). Parfois même on observe un ou deux doigts surnuméraires (Fig. 48, b, c). Un deuxième ensemble correspond aux séries 58 à 60 où une seule qualité *d* ou *v* est présente dans les greffons. Sur 87 membres opérés, 29 (33 %) ne régénèrent pas. Les 58 morphogènes obtenues se caractérisent par un faible degré de développement, le squelette se réduisant à quelques éléments non identifiables (Fig. 49, a, b, c).

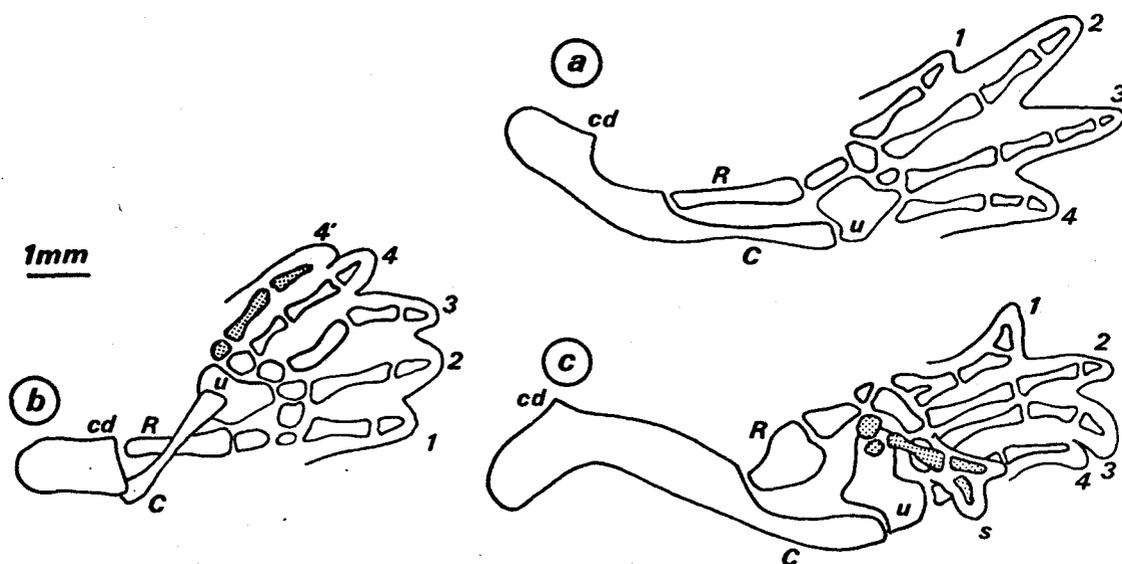


Fig. 48 - Squelettes de membres régénérés de la série 57.

- a - Membre subnormal où le cubitus est soudé à l'humérus.
- b - Membre ayant subi une torsion de 180 degrés, radius et cubitus formant une croix ; la face palmaire est dorsale et un doigt surnuméraire (en grisé) s'est développé.
- c - Membre subnormal montrant une formation surnuméraire bifide dorsale (en grisé).

C : cubitus ; cd : crête deltoïde ; R : radius ; u : ulnaire.



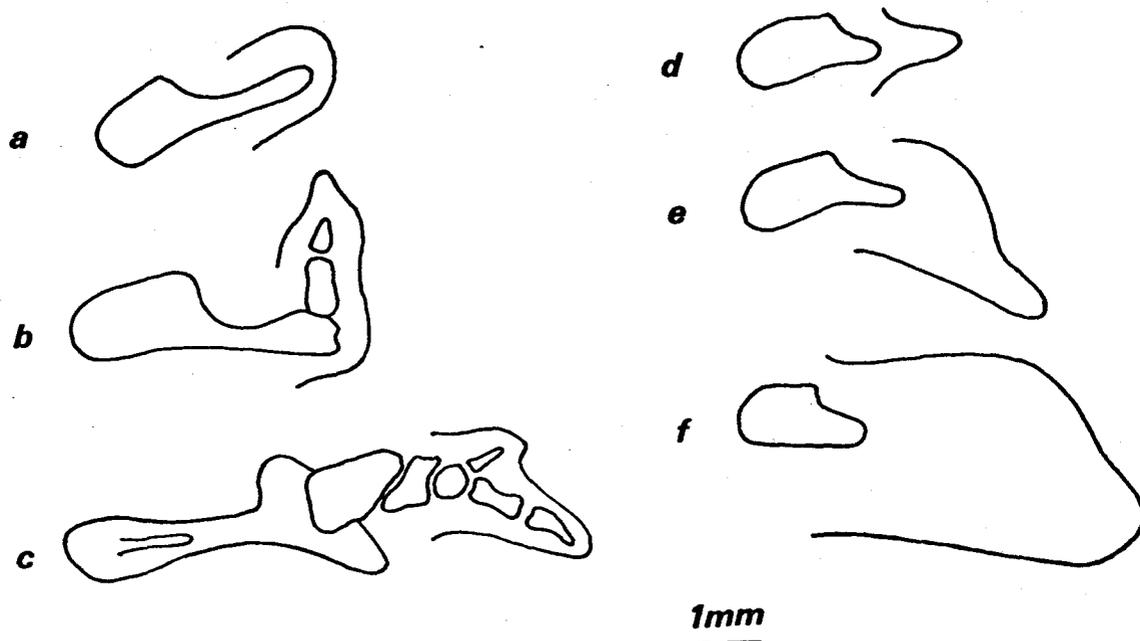


Fig. 49 - Morphogenèses résultant des greffes de muscles dorsaux (série 59) et de muscles de flanc (série 61).

a, b, c - Trois degrés dans le développement de la morphogenèse après greffe de muscle de bras dorsal.

a - Pas de régénération.

b - Développement d'une protubérance soutenue par deux éléments cartilagineux.

c - Une des formations les plus développées de cette série.

d, e, f - Après greffe de muscle de flanc, il peut se développer une protubérance plus ou moins importante mais sans aucun élément squelettique de soutien.

Enfin, la transplantation de muscle de flanc sur le moignon d'un membre irradié ne permet pas le développement d'un membre (Pl. VI, p). Les prestations obtenues sont très réduites, informes et non soutenues par des pièces squelettiques (Fig. 49, d, e, f).

### 3- Discussion

L'analyse des résultats de greffes de fragments de muscles de membre sur le moignon d'un membre irradié autorise à formuler des conclusions semblables à celles qui ont été dégagées des résultats d'expériences de greffe de peau. Un muscle ventral seul, ou dorsal seul, de même qu'un manchon de peau d'une qualité, ne permettent pas le développement d'un membre normal. Par

contre, l'association de deux muscles de faces opposées assure la création d'un centre morphogénétique. THORNTON (1942) et TRAMPUSCH (1951) ont obtenu des régénérats après avoir transplanté des muscles de membres dans le moignon d'amputation de membres irradiés, mais le manque de précisions sur l'origine spatiale des muscles greffés ne nous permet pas de comparer nos résultats aux leurs. De son côté, NAMENWIRTH (1974) étudiant la destinée du muscle greffé sur un membre irradié, obtient, à partir du muscle ventral de cuisse, aussi bien des excroissances pointues que des membres d'apparence normale, dont elle n'étudie pas la structure. L'obtention de membres normaux serait en opposition avec les résultats de notre série 58.

#### D - POTENTIALITÉS MORPHOGÉNÉTIQUES DES TISSUS SQUELETTIQUES

Nous avons testé les potentialités morphogénétiques de l'os et du cartilage du membre.

##### SERIES 62 A 66

##### 1- Expériences (Tableau 24)

Il n'est pas possible d'attribuer telle ou telle qualité à l'humérus, mais on peut accorder au radius une qualité antérieure et au cubitus une qualité postérieure. Chaque os est prélevé sur le membre gauche et débarrassé des fragments de muscles. Les épiphyses sont éliminées et les diaphyses sont glissées sous la peau du moignon d'amputation du bras droit irradié.

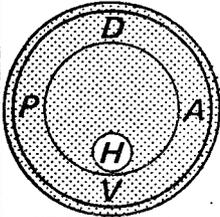
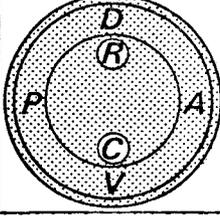
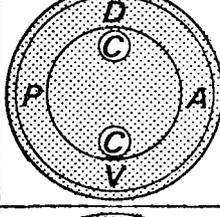
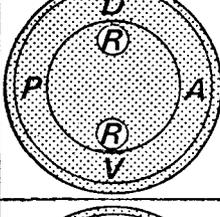
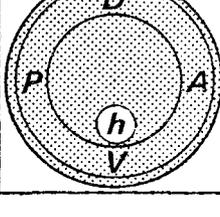
Nous avons ainsi transplanté de l'humérus seul (série 62) du radius associé à du cubitus (série 63) du cubitus seul (série 64) et du radius seul (série 65). Enfin, dans la série 66, nous avons prélevé du cartilage de la diaphyse de l'humérus du membre gauche régénéré. Cette procédure permet d'obtenir un cartilage abondant non ossifié et qui peut être aisément débarrassé de son fin manchon périostique. Ce cartilage est transplanté sous la peau ventrale du moignon d'amputation du bras droit irradié.

##### 2- Résultats (Tableau 25)

Les greffes d'humérus fournissent une gamme de membres plus ou moins bien développés correspondant soit à des formations hypomorphes, soit à des mains normales (Pl. VII, a), soit à des mains à plus de 4 doigts. L'analyse de leur squelette confirme l'existence de mains et

et d'avant-bras bien constitués (Pl. VII, b ; Fig. 50, a) à côté de formations moins structurées (Pl. VII, c, d). L'association du radius et du cubitus fournit des néoformations dont le degré de développement est bien inférieur à celui observé dans la série précédente. Le régénérat peut être une main (Pl. VII, e ; Fig. 50, b) mais souvent il est hypomorphe (Pl. VII, f). La greffe de radius ou de cubitus est également suivie du développement d'un membre hypomorphe (Pl. VII, g, h, i ; Fig. 50, c). Une seule néoformation correspond à un membre bien développé (Pl. VII, j ; Fig. 50, d). Enfin le cartilage pur n'est que faiblement morphogénétique comme en témoignent les rares initiations de régénération (Fig. 50, e).

Tableau 24 - Données expérimentales des séries 62 à 66 (Grefte d'os et de cartilage).

Séries	Greffons	Position dans le moignon	Surface d'amputation
62	Humérus diaphysaire ou épiphysaire	<i>v</i>	
63	Radius diaphysaire + Cubitus diaphysaire	<i>d</i>  <i>v</i>	
64	Cubitus            moitié distale diaphysaire       moitié proximale	<i>d</i>  <i>v</i>	
65	Radius            moitié distale diaphysaire       moitié proximale	<i>d</i>  <i>v</i>	
66	Cartilage Humérus diaphysaire	<i>v</i>	

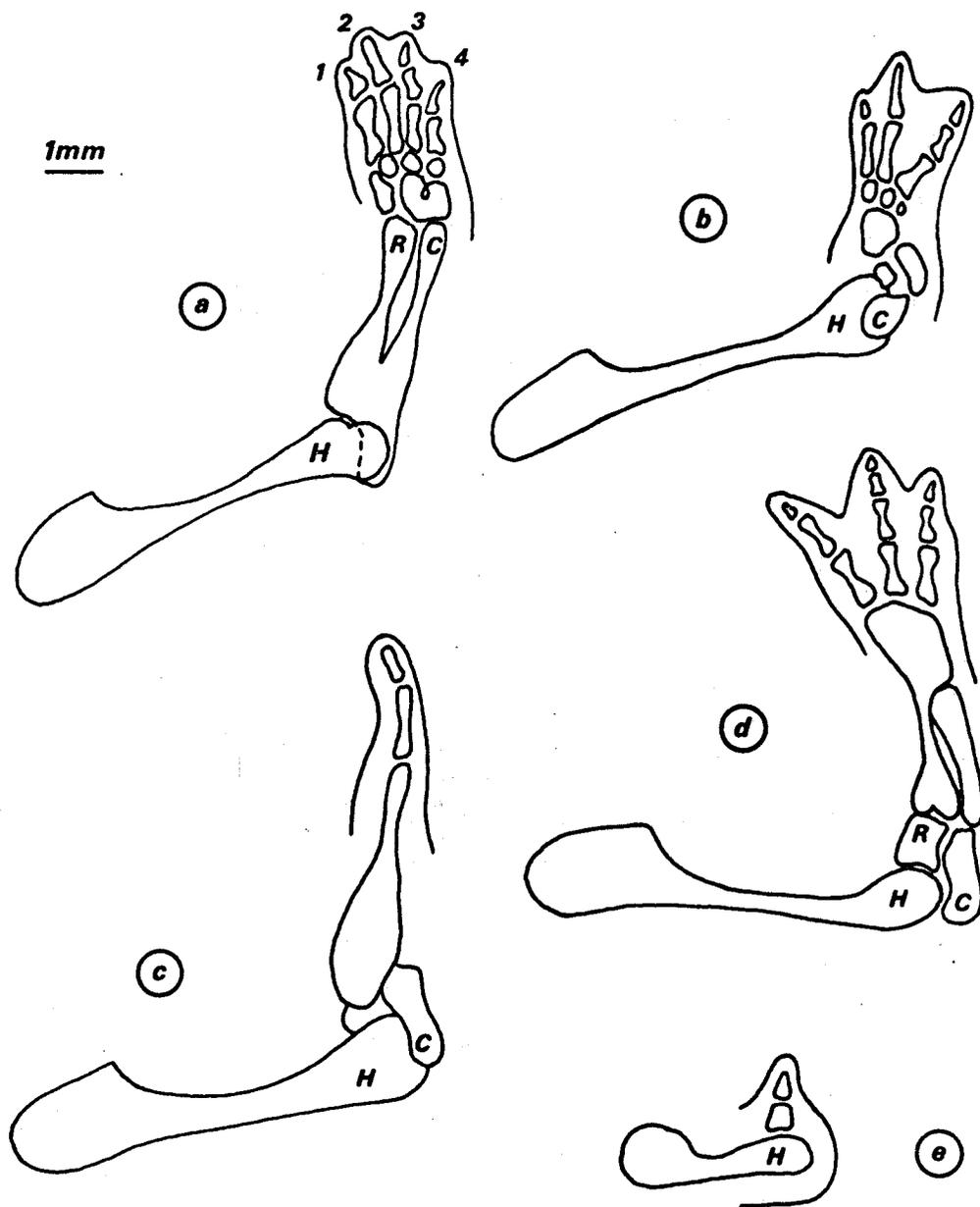


Fig. 50 - Squelettes de membres obtenus après greffe d'os sur le moignon d'amputation du membre droit irradié.

- a - Membre normal régénéré après greffe d'humérus gauche sur le moignon d'amputation du bras droit irradié (série 62).
- b - Main régénérée après greffe de radius et de cubitus sur le moignon d'amputation de l'avant-bras droit irradié (série 63).
- c et d - Régénérats obtenus après greffe de cubitus sur le moignon de l'avant-bras droit irradié (série 64). c - Le membre régénéré est hypomorphe comme la majorité des régénérats de la série 64. d - Seul membre de la série 64 dont le degré de développement correspond à celui d'un membre normal.
- e - Squelette d'un membre régénéré après greffe de cartilage diaphysaire d'humérus (série 66). Seuls quelques nodules cartilagineux se sont différenciés.

Tableau 25 - Résultats des séries 62 à 66 : Potentialités morphogénétiques des tissus squelettiques.

Séries	NB de cas	Morphogenèse						Squelettes			
		Absente	Prestation digitiforme ou bifurquée	Prestation à 3 ou 4 doigts	Membres multiples		Ni carpe ni zeugopode différenciés	Plus de 2 doigts		Carpe + zeugopode + doigts	
					main élargie	2 mains		1 ou 2 doigts	Plus de 2 doigts		
62	47	17	8	7	11	4	8	9	13		
63	30	5	16	8	1		16	5	4		
64	29	13	7	9			7	8	1		
65	31	24	6	1			6	1			
66	30	25	5				5				



### 3- Discussion

Une induction de morphogénèse est obtenue à partir de l'humérus greffé, ce qui confirme les résultats d'UMANSKI (1937, 1938, 1939) et TRAMPUSCH (1951, 1958). L'humérus semble donc posséder toutes les valeurs de position nécessaires au développement d'un membre complet, ce que le modèle de BRYANT et ITEN (1976) comportant des valeurs de position réparties selon un cylindre creux, ne prenait pas en considération. Le développement de membres à nombreux doigts à la suite des greffes d'humérus, avait également été observé par TRAMPUSCH (1951). Ce résultat surprenant ne nous paraît explicable par aucun des modèles proposés jusqu'à présent.

L'association du radius et du cubitus n'assure que rarement la morphogénèse d'une main, tandis que le radius seul ou le cubitus seul ne permettent pas, sinon de façon exceptionnelle de former une extrémité normale de membre. A première vue, les os du zeugopode semblent moins morphogénétiques que l'humérus. En réalité, d'une part les formations obtenues à partir de tissus d'avant-bras sont moins développées que celles qui se constituent à la suite de greffe de tissus de bras, d'autre part, le développement proximo-distal d'un régénérat est toujours inférieur à celui qu'on est en droit d'attendre compte-tenu du niveau de l'axe proximo-distal où a été prélevé le greffon. Peu de mains ont donc été formées. En conclusion, le radius et le cubitus, tout comme la peau ou la musculature de l'avant-bras, doivent être affectés de valeurs de position, mais la procédure expérimentale utilisée ne rend probablement pas possible l'expression des potentialités morphogénétiques du squelette du zeugopode.

Le cartilage pur de l'humérus régénéré est incapable d'assurer le développement d'un membre de Pleurodèle. EGGERT (1966) aboutit au même résultat chez *Triturus viridescens* après avoir transplanté du cartilage d'épaule sur le moignon d'amputation d'un bras irradié. Par contre DESSELLE (1968) observe une régénération normale de membre irradié de *Triturus cristatus* consécutive à des implantations de cartilage marqué de membre, et conclut que l'implant et les cellules du moignon participent à l'établissement du régénérat. WALLACE *et al.* (1974) obtiennent chez *Ambystoma mexicanum*, des régénérats de membres irradiés mais supposent que les seuls chondrocytes greffés ont participé à cette morphogénèse.

Cette faible capacité morphogénétique du cartilage est surprenante. Il est probable que les chondrocytes dédifférenciés ne sont pas

capables de fournir tous les types cellulaires ce qui limiterait leurs performances morphogénétiques, mais les chondrocytes pourraient au moins fournir de nombreux autres chondrocytes afin d'édifier le squelette. Alors le cartilage greffé ne présente peut-être pas toutes les valeurs de position nécessaires au développement d'une morphogenèse normale.

#### E - RÉGÉNÉRATION APRÈS GREFFE DE DEUX TYPES DE TISSU NON IRRADIÉ SUR UN MEMBRE IRRADIÉ AMPUTÉ

Les expériences précédentes ont démontré à la fois le caractère insuffisant de la présence d'une qualité de peau ou de muscle dans le développement d'un membre normal et le caractère suffisant de l'association de deux faces opposées de peau ou de muscle dans l'obtention d'un membre normal. Les associations de secteurs de peau et de fragments de muscles correspondant à deux qualités opposées conduisent-elles aux mêmes résultats ? La série d'expériences suivante a été réalisée afin de répondre à cette question.

##### Expériences

##### Série 67

Sur le moignon d'un membre irradié on greffe un secteur de peau ventrale non irradiée en remplacement du secteur correspondant de peau irradiée et un fragment de muscle dorsal non irradié sous la peau dorsale.

##### Résultats

Les 22 membres opérés présentent une morphogenèse dont le nombre de doigts est de 2 (3 cas), de 3 (2 cas), de 4 (15 cas) ou de 5 (2 cas) (Pl. VII, k, 1). Le squelette est bien différencié en ses 3 segments pour 18 de ces membres, parmi lesquels 3 ont un zeugopode à un seul os. La polarité dorso-ventrale n'a pas été repérée et la polarité antéro-postérieure est normale (14 cas) ou indéterminée.

##### Conclusion

Alors que la peau ventrale ou le muscle dorsal greffés de façon indépendante sur un moignon de membre irradié ne forment pas de prestations structurées, l'association de ces tissus de qualités opposées est à l'origine de morphogenèses normales.

## F - DISCUSSION

La néoformation réalisée à l'extrémité amputée d'un membre irradié sur laquelle des tissus non irradiés ont été greffés se présente sous des formes plus ou moins structurées, allant de l'ergot, traduisant une initiation de morphogénèse, jusqu'au membre normal. La discussion portera sur l'influence de la nature des tissus greffés et sur celle de leurs positions d'origine et de leurs associations, sur le degré de développement du régénérat. Dans une troisième partie nous discuterons de l'influence de la rotation de 90 degrés de l'axe *pr-di* de la peau sur la régénération.

### 1 - NATURE DES TISSUS GREFFES

Tous les membres obtenus à l'extrémité distale d'un moignon irradié sont le résultat de greffes de tissus non irradiés de membre. La peau de flanc ou le muscle somitique ont été incapables d'assurer seuls, la régénération des membres irradiés amputés. Ce résultat confirme la neutralité des tissus du flanc des larves de Pleurodèle dans la morphogénèse de leurs membres.

Les tissus du membre sont inégalement aptes à induire le développement d'une néoformation dans un moignon de membre irradié. L'épiderme ne peut assurer la régénération du membre irradié tandis que le cartilage ne permet que la différenciation de quelques nodules cartilagineux.

Chacune des structures, peau, derme, musculature et os peut, par contre, assurer le développement d'une néoformation dans des conditions que nous allons analyser et discuter.

### 2 - ASSOCIATIONS DE TISSUS DE QUALITES DIFFERENTES

Si l'initiation de morphogénèse est observée dans l'ensemble des séries d'expériences que nous venons de présenter, le développement d'un membre normal ne se produit que dans certaines d'entre elles. Ainsi, un tissu représenté par une seule qualité ne permet pas la genèse d'un membre. De plus, le taux d'obtention des membres normaux varie d'une série à une autre. Il diminue progressivement quand les tissus greffés représentent respectivement, les quatre faces du membre, trois faces, deux faces opposées et deux faces non opposées.

La plupart de ces résultats ont été publiés antérieurement (LHEUREUX, 1975 b, 1976). Les expériences correspondaient aux greffes de tissus cutanés et musculaires porteurs de toutes les qualités, de deux qualités opposées ou d'une seule qualité. La conclusion de cette étude était qu'il fallait au moins une association de tissus de qualités opposées pour qu'il y ait une morphogénèse de membre normal. Cette conclusion renforçait l'idée qu'une morphogénèse surnuméraire était le résultat d'un contact de tissus de faces opposées (LHEUREUX, 1972, 1975 a). Tous ces résultats et conclusions se trouvaient être en accord avec le modèle de FRENCH *et al.* (1976). Sont également en accord avec ce modèle les résultats d'expériences d'association de deux moitiés antérieures ou de deux moitiés postérieures d'appendice d'Insecte (BOHN, 1965) ou de membre de Triton (BRYANT, 1976). Il y a absence de régénération, tout comme nous l'observons à la suite des greffes de tissus d'une qualité.

Un demi-moignon antérieur ou postérieur de membre du Triton *Notophthalmus viridescens* (BRYANT, 1976) est suffisant pour que la partie amputée se régénère normalement dans 53 cas sur 62. GOSS (1957 a) a réalisé cette expérience sur la même espèce et a obtenu 54 % de régénération incomplète à un ou deux doigts (moyenne du nombre de doigts : 2,47 contre 3,80 après simple amputation). L'irradiation de la moitié postérieure du moignon d'amputation (GOSS, 1957 b) aboutit à un résultat voisin (moyenne du nombre de doigts : 2,05). Les résultats de GOSS mettent en défaut le modèle de FRENCH *et al.* (1976). En effet, il n'y a pas eu mise en place des valeurs de position manquantes correspondant à une moitié de membre. De plus la régénération a eu lieu sans qu'il y ait une séquence complète de valeurs de position au niveau du moignon d'amputation puisque les membres sont hypomorphes. Les résultats des expériences de STINSON (1964, a) sont comparables à ceux de GOSS. Des moitiés ulnaires ou radiales d'avant-bras gauche non irradié sont implantées dans la cavité du bras droit irradié laissée par l'extirpation de l'humérus. L'auteur observe le développement de régénérats à deux doigts ou en forme de pointe. La régulation transverse ne s'est donc pas produite. Enfin certains de nos résultats ne s'expliquent pas non plus par le modèle de FRENCH *et al.* Nos séries 43 à 46 réalisant des associations de peau de qualités différentes mais non opposées, ont fourni des membres normaux. Rappelons que, pour l'ensemble de ces quatre séries, les prestations correspondant à des membres normaux ou subnormaux - deux os zeugopodiaux et au moins 3 doigts - représentent 28 % des membres opérés. L'association de deux qualités suffisamment différentes mais non opposées permet le développement normal d'un membre. Ce résultat suppose l'existence de toutes les valeurs de position au niveau du moignon. Par conséquent, il faut

admettre que l'intercalation des valeurs de position manquantes puisse se faire autrement que selon le principe de la route la plus courte. Par exemple, l'association de peau dorsale et postérieure dont les valeurs de position sont 12 et 3 mettront en place les valeurs 1 et 2 par la route la plus courte mais non les valeurs 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4 (Fig. 51).

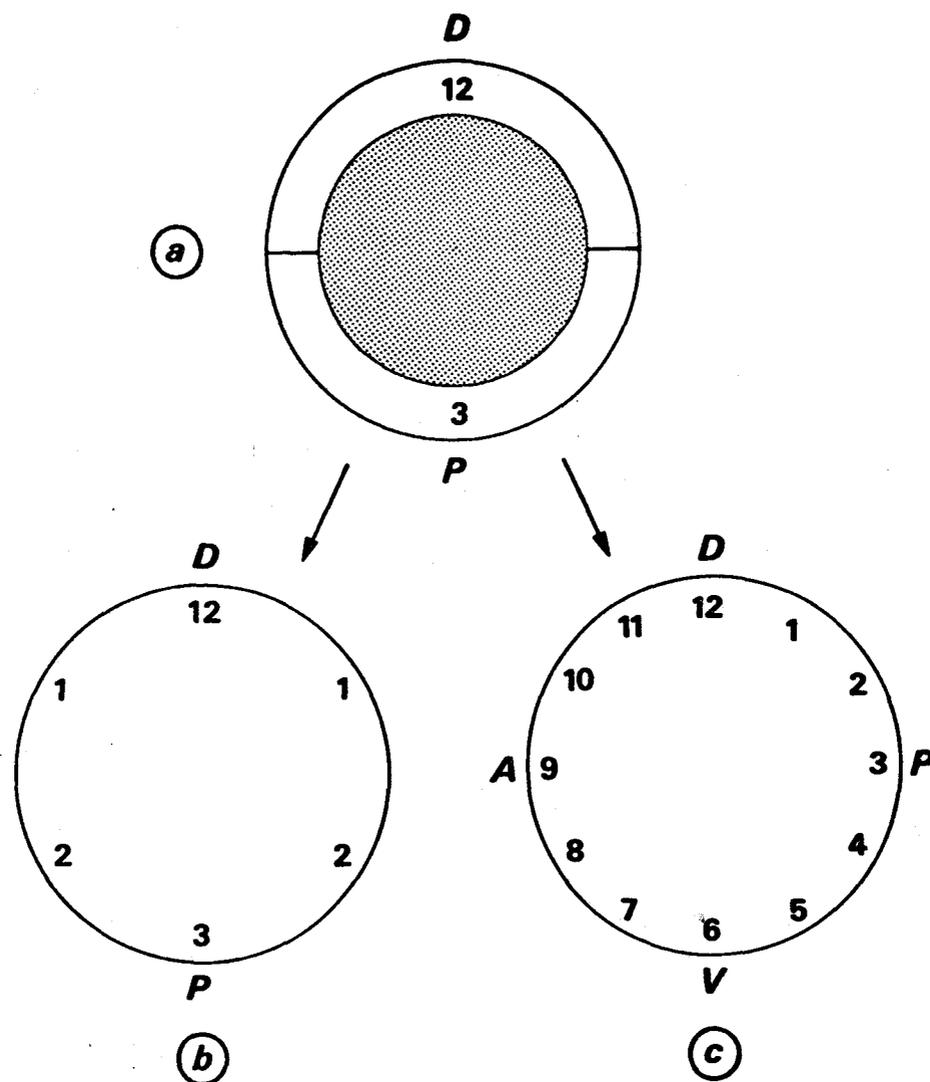


Fig. 51 - Interprétation des résultats de l'expérience 44.

- a - Valeurs de position présentes dans le moignon au moment de l'opération.
- b - Valeurs de position mises en place selon l'hypothèse de FRENCH *et al.* (1976).
- c - Valeurs de position réellement mises en place puisqu'il y a régénération normale.

Les mêmes résultats se retrouvant dans chacune des quatre séries 43 à 46, on ne peut invoquer une inégale répartition des valeurs de position comme le suggèrent les résultats de P. BRYANT (1975) sur les disques imaginaires de *Drosophila* et leur interprétation selon le modèle de FRENCH *et al.* (1976).

Par ailleurs chez l'Insecte *Carausius morosus*, BART (1969) a montré que deux faces antérieure et dorsale mises en contact peuvent donner naissance à un appendice surnuméraire présentant entre autres, une face ventrale et tous les articles du trochanter au tarse.

Nous constatons, chez les Amphibiens, comme chez les Insectes, qu'un centre morphogénétique peut être mis en place par contact ou association de tissus provenant de faces différentes mais non opposées. Ces résultats nous obligent à rester prudents dans nos tentatives de généralisation relatives au problème de la régulation.

### 3 - INFLUENCE DE LA ROTATION DE 90 DEGRES DE L'AXE PROXIMO-DISTAL DE LA PEAU SUR LA REGENERATION

Les expériences dans lesquelles nous avons cherché à greffer autour du moignon d'amputation d'un membre irradié ou non, de la peau d'une seule qualité nous ont conduit à modifier l'orientation de l'axe *pr-di* du greffon de peau. La rotation de 90 degrés de l'axe *pr-di* a-t-elle une réelle influence sur la régénération ?

Considérons la greffe d'une bande de peau dorsale autour d'un moignon d'amputation. Trois paramètres sont introduits par cette procédure expérimentale : (1) la rotation de 90 degrés de l'axe *pr-di*, (2) un gradient *pr-di* est amené à la périphérie du moignon d'amputation puisque la bande de peau s'étend du milieu du bras au milieu de l'avant-bras, (3) la présence d'une qualité unique, la qualité *d*, au niveau de section du moignon.

#### a) Rotation de 90 degrés de l'axe proximo-distal

L'étude comparée des résultats de quatre séries présentées dans ce troisième chapitre doit apporter une réponse à la question du rôle éventuel de ce paramètre dans la régénération.

Dans les séries d'expériences 32 et 36 nous avons greffé de la peau représentée par les quatre qualités *d*, *v*, *a* et *p*, mais dans la première l'axe *pr-di* n'a pas été modifié alors que dans la seconde, chaque quart de manchon a pivoté de 90 degrés (Fig. 32 et 33). Les résultats sont tout à fait comparables et consistent en membres bien développés. Dans les deux autres séries d'expériences, 47 et 52, nous avons greffé sur les moignons de membres irradiés, de la peau de qualité dorsale mais dans la série 47, l'axe *pr-di*

a pivoté de 90 degrés alors que dans la série 52, la polarité *pr-di* du greffon correspond à celle du membre normal (Fig. 44 et 45). Ici encore le degré de développement des prestations obtenues dans chacune de ces deux séries est équivalent. Nous pouvons conclure que la rotation de 90 degrés de l'axe proximo-distal de la peau greffée n'a aucune influence sur le développement des néoformations.

b) Influence du gradient proximo-distal

L'axe *pr-di* correspond à la troisième dimension du membre, les axes *a-p* et *d-v* correspondant aux deux premières. Les valeurs de position au niveau d'un plan transverse pourraient-elles être équivalentes aux valeurs de position proximo-distales ? S'il y avait équivalence des systèmes de valeurs de position, on pourrait penser que de la peau dorsale située à un niveau distal pourrait se comporter comme de la peau ventrale. Or nous verrons dans la troisième partie de ce mémoire que le caractère dorsal ou ventral est constant le long du membre. En conséquence, l'introduction d'une hétérogénéité proximo-distale n'altère pas le caractère dorsal de la peau greffée.

c) Qualité unique de peau au niveau du moignon d'amputation

Ce troisième paramètre paraît donc responsable des résultats obtenus à la suite de greffes de bandes de peau prélevées sur une face du membre, sur les moignons de membres irradiés ou non.

Nous avons donné, dans le chapitre précédent une explication des résultats des séries 11 à 14, basée sur l'unique considération de ce paramètre. Lorsque les tissus axiaux du moignon porte-greffe sont irradiés, une greffe de peau d'une seule qualité (séries 47 à 52) conduit à l'absence de morphogénèse. Ce résultat s'explique par l'impossibilité de création d'un centre morphogénétique à partir de cellules affectées de la même valeur de position.

Certains auteurs ont accordé à l'orientation proximo-distale de la peau une importance dans la régénération du membre. MONROY (1944) ampute l'extrémité des deux membres de Triton et rapproche les moignons dont les tissus se soudent. Quand l'angle entre les deux membres ainsi unis est faible, une double main se développe. Quand l'angle augmente, le degré de développement du régénérat s'amointrit. Enfin la régénération ne s'observe plus pour des angles supérieurs à 90 degrés. Selon MONROY, il existerait des lignes parallèles à la direction proximo-distale du membre constituant le champ du membre. Quand ces lignes se croisent avec d'autres lignes le champ du membre est détruit. OBERPRILLER

(1968) reprend et complète les expériences faites par MONROY, obtient les mêmes résultats et partage l'explication de MONROY. Selon notre hypothèse, ces résultats s'interprètent simplement, car le rapprochement des surfaces d'amputation des membres n'a établi de contacts qu'entre tissus de valeurs de position équivalentes. UMANSKI *et al.* (1951) ont constaté avant nous qu'une bande de peau dorsale de membre, greffée en manchon autour d'un membre irradié conduit à une absence de régénération. Ils supposent que ce résultat est lié à l'orientation des cellules du derme qui ne peuvent dans cette position particulière se libérer et s'amasser pour former le blastème. Nous venons de démontrer qu'il n'en était rien. SETTLES (1967) a greffé des manchons de peau d'une face autour des tissus axiaux d'un moignon de membre non irradié et indique simplement que la rotation de 90 degrés de la peau a une incidence sur la genèse des doigts surnuméraires.

Quelle que soit l'importance qu'on accorde à la rotation de 90 degrés de la peau dans la régénération du membre d'Urodèle, nous remarquons que lorsque les régénérats se forment, leurs structures sont normalement orientées (Pl. V, d). Il n'existe pas chez les Amphibiens de structures superficielles qui permettent d'examiner un rétablissement des cellules selon leur orientation *pr-di* d'origine. Ce rétablissement a pu être suivi sur la cuticule des Insectes. BOHN (1974) et NÜBLER-YUNG (1974) font pivoter de 90 degrés un carré d'épiderme. Les cellules gardent plus ou moins entre elles leurs relations de voisinage de sorte que la détorsion intéresse finalement le greffon dans son ensemble. LAWRENCE (1974) fait pivoter de 90 degrés, non plus un carré mais une bande de tégument et observe que le rétablissement de la polarité proximo-distale s'opère au niveau de chaque cellule. Il est vraisemblable que chez les Amphibiens une telle réorientation doit se produire. Cette polarisation peut être déterminée par l'orientation des extrémités des nerfs car les néoformations qui se développent à l'extrémité d'un nerf dévié au niveau du bras, sont bien souvent perpendiculaires à celui-ci (voir chapitre VIII).

## CONCLUSION

L'irradiation X supprime l'influence morphogénétique des tissus. La greffe élective des divers tissus d'un membre non irradié, convenablement associés et orientés dans le moignon de membres irradiés conditionne, à des degrés divers le développement et l'orientation de néoformations. Cette étude confirme et complète les suggestions et hypothèses relatives au développement d'une morphogenèse régénératrice. La peau, le derme la musculature et le squelette greffés isolément peuvent, dans certaines conditions, permettre le développement d'un membre dont le squelette est normalement constitué. Chacun d'eux est donc capable de diriger la régénération du membre. L'épiderme, au contraire, n'a pas de rôle morphogénétique.

Un tissu d'une qualité permet au mieux une initiation de morphogenèse. Un régénérat complet n'a été obtenu qu'à partir de l'association de tissus de qualités différentes.

Enfin, la rotation de 90 degrés de la peau n'a aucune influence sur la régénération.

## CHAPITRE IV

### ORIGINE DES TISSUS DES NEOFORMATIONS INDUITES PAR LA GREFFE DE TISSUS NON IRRADIES SUR LE MOIGNON D'UN MEMBRE IRRADIE

Nous venons de démontrer que les tissus non irradiés, greffés dans des conditions particulières sur le moignon d'un membre irradié sont capables d'induire le développement d'une néoformation. La question se pose depuis de nombreuses décades de savoir quel est le mode d'action des tissus greffés sur la régénération.

Plusieurs hypothèses peuvent être envisagées selon les résultats et conclusions de nombreux travaux : (1) les cellules du greffon forment un régénérat indépendant des cellules irradiées, (2) le greffon rétablit la fonction de régénération du moignon irradié qui fournit seul les cellules du régénérat, (3) le greffon rétablit la fonction de régénération du moignon qui produit des cellules tout comme le greffon afin de constituer un blastème composite, (4) l'irradiation ne détruit pas les cellules mais le champ morphogénétique, ce dernier pouvant être remplacé par celui des tissus greffés.

La première hypothèse s'appuie sur plusieurs faits : Une stricte relation de spécificité entre le greffon et le régénérat est établie (UMANSKI, 1937, 1938 ; THORNTON, 1942 ; LUTHER, 1948 ; SKOWRON et ROGUSKI, 1958). De plus on constate que le degré de développement *pr-di* du régénérat est indépendant du niveau *pr-di* du moignon irradié mais dépend uniquement de celui du tissu greffé (WORONTSOVA, 1937 citée par GOSS, 1961 ; UMANSKI, 1939 ; STINSON, 1964, b ; LHEUREUX, 1975 b). Enfin la recherche des mitoses dans les tissus irradiés et non irradiés permet de conclure à la seule participation des tissus greffés non irradiés (UMANSKI et BASINA, 1948 ; MADEN et WALLACE, 1976).

L'ensemble de ces résultats démontre que la régénération d'un membre irradié est sous le seul contrôle des tissus non irradiés greffés sur son moignon. Les cellules irradiées survivent sans pouvoir se diviser. Les mitoses observées présentent des anomalies. Il est donc peu probable qu'elles participent à la formation du régénérat.

D'autres résultats d'expériences apportent des preuves en faveur de la deuxième hypothèse. La régénération des membres irradiés peut être consécutive à l'injection d'homogénats de tissus (POLEZAJEW, 1959 ; POLEZAJEW et ERMAKOVA, 1960) ou d'ADN, ARN ou protéines (POLEZAJEW *et al.*, 1963) ou encore d'extraits de tissus cartilagineux (DESSELLE, 1968). Nous considérons toutefois avec prudence les résultats des auteurs soviétiques car les animaux irradiés qu'ils opèrent régénèrent aisément leurs membres à la suite d'amputations répétées (POLEZAJEW *et al.*, 1963) ou de traumatismes (TUCHKOVA, 1966).

La troisième hypothèse s'appuie sur l'obtention de régénérats chimères obtenus à la suite de greffes de tissus de queue non irradiée sur le moignon d'un membre irradié (LIOSNER, 1947 ; SIDOROVA, 1949 ; LAGAN, 1961). Ici encore on comprend mal qu'un moignon irradié dont les cellules ne peuvent plus se diviser puisse coopérer à la croissance du régénérat. Il semblerait plutôt que l'irradiation X ait été insuffisante, de sorte que toutes les cellules n'auraient pas été lésées de façon irréversible.

Enfin l'hypothèse de la seule destruction du champ morphogénétique par l'irradiation X est défendue par TRAMPUSCH (1963) dont les résultats (TRAMPUSCH, 1951, 1958) permettraient tout autant de défendre la première hypothèse. Nous admettons difficilement que des cellules irradiées de membre puissent de nouveau se diviser et devenir des cellules de queue quand elles sont soumises au champ morphogénétique de la queue à la suite de greffes de tissus caudaux sur le moignon d'un membre irradié.

Notre avis est qu'une cellule suffisamment irradiée subit une altération nucléaire la condamnant à la dégénérescence, et par suite à ne plus participer à la régénération d'un membre.

Si les seuls tissus capables d'assurer la régénération sont les tissus non irradiés, il semble intéressant de suivre la destinée des cellules irradiées du moignon d'amputation et celle des cellules non irradiées qu'on y a greffées. Jusqu'à ce jour, deux protocoles expérimentaux ont été utilisés. Le marquage par incorporation d'éléments radioactifs dans les tissus non irradiés ou irradiés et dans ce cas le marquage

précède l'irradiation (ROSE et ROSE, 1965 ; STEEN, 1968 ; DESHA, 1974).

D'autres auteurs ont utilisé des cellules haploïdes ou triploïdes pour suivre la destinée des tissus greffés sur le moignon d'amputation d'un membre irradié ou non irradié (HAY, 1952 ; BARR, 1964 ; PATRICK et BRIGGS, 1964 ; STEEN, 1968 ; NAMENWIRTH 1974 ; DUNIS et NAMENWIRTH, 1976).

Nous avons utilisé des greffons triploïdes et examiné de façon qualitative et quantitative le degré de ploïdie des différents tissus régénérés, non par examen des nucléoles mais par analyse quantitative de l'ADN des cellules. Nous avons étudié l'origine de l'épiderme des néoformations produites à partir du moignon d'un membre irradié sur lequel ont été greffés des muscles dorsaux et ventraux et recherché le degré de ploïdie des principaux tissus régénérés à partir de greffes de derme ou de muscles.

#### A - ORIGINE DE L'ÉPIDERME DES MEMBRES IRRADIÉS RÉGÉNÉRÉS

Lorsqu'on transplante sur le moignon d'un membre irradié un manchon de peau non irradiée ou des fragments de muscles dorsaux et ventraux, un régénérat peut se développer. L'épiderme peut provenir de la peau greffée mais quand les tissus non irradiés sont constitués uniquement de muscles, la question se pose de savoir si l'épiderme du régénérat provient ou non de l'épiderme irradié. Afin de répondre à cette question nous avons réalisé l'ensemble expérimental suivant.

##### 1 - EXPERIENCES

Les séries d'expériences sont destinées à rechercher, dans une première étape, si l'épiderme non irradié est indispensable à la régénération, et dans une deuxième étape, quel type d'épiderme doit être présent pour assurer la régénération des membres irradiés après des greffes de muscles non irradiés.

Série 68 - Les larves de Pleurodèle d'une taille de 55 mm subissent une *irradiation totale de leur corps* (2 000 r). Elles reçoivent aussitôt après, sur chacun de leurs bras, un manchon de peau non irradiée en remplacement de la peau irradiée. L'amputation des membres est faite le lendemain sur le bord distal du greffon (Fig. 52 b).

Série 69 - Les jeunes larves *totalement irradiées* reçoivent cette fois sur leurs membres des fragments de muscles dorsaux et ventraux de bras non irradié. L'amputation est réalisée le lendemain à travers le greffon (Fig. 52, c).

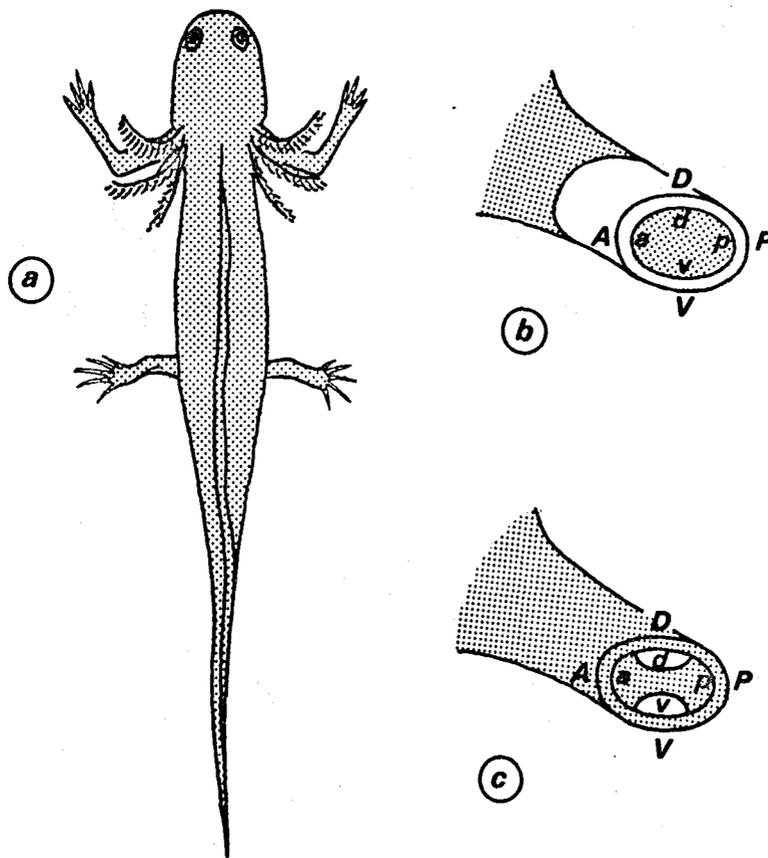


Fig. 52 - Procédure expérimentale des séries 68 et 69.

- a - Irradiation totale.
- b - Greffe d'un manchon de peau non irradiée.
- c - Greffe de muscles non irradiés.

Série 70 - Le membre droit d'une larve de Pleurodèle est irradié, puis un greffon de peau de bras d'un animal triploïde est greffé dans la partie la plus proximale du membre. En même temps, des fragments de muscles dorsaux et ventraux du bras gauche non irradié sont greffés sous la peau de l'avant-bras droit et l'amputation est faite le lendemain à ce niveau (Fig. 53).

## 2 - RESULTATS

### a) Séries 68 et 69

Les larves totalement irradiées ne se nourrissent plus mais survivent pendant une période de trois à cinq semaines. Ce laps de temps est suffisant pour observer chez les animaux de la série 68 la formation d'un petit membre comportant des doigts individualisés (Fig. 54). Au bout de trois semaines trente membres présentaient un blastème de régénération en forme de cône allongé ou de palette. Cinq d'entre eux ont pu se développer sous la forme d'un membre miniaturisé.

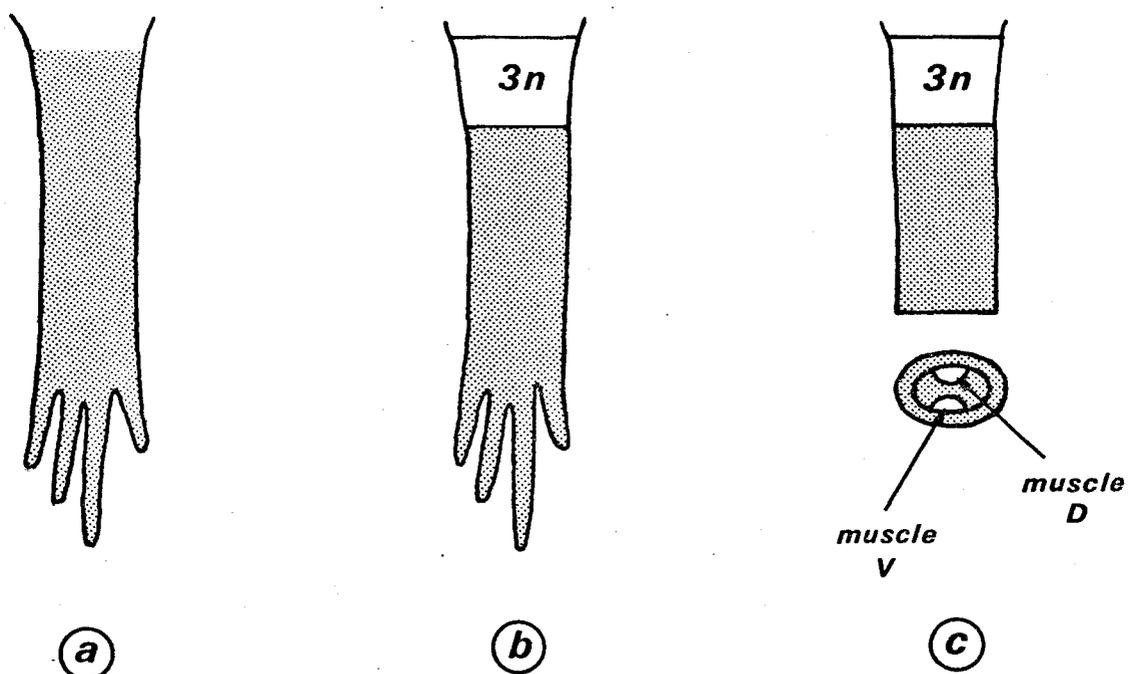


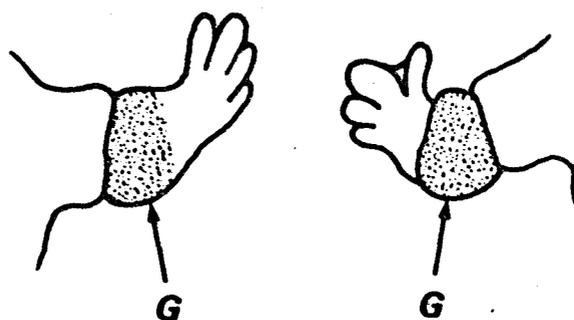
Fig. 53 - Procédure expérimentale de la série 70.

a - Irradiation X du membre droit.

b - Greffe d'un manchon de peau triploïde.

c - Greffe de muscles dorsal et ventral au niveau du moignon d'amputation.

Par contre dans la série 69, sur les 24 animaux opérés sur les membres antérieurs droits et gauches, aucun cas de formation de blastème de régénération n'a été observé dans un délai de trois à cinq semaines.



1mm

Fig. 54 - Deux régénérats développés sur des membres d'animaux totalement irradiés sur le moignon desquels on a greffé un manchon de peau non irradiée (G).

b) Série 70

L'association de muscles dorsal et ventral de membre non irradié induit le développement d'une néoformation. Afin de connaître le type d'épiderme recouvrant cette néoformation nous faisons une analyse comparative de l'épiderme le long de l'axe *pr-di* du membre droit. Quatre zones I, II, III, IV (Fig. 55) correspondent respectivement à l'épaule, au manchon de peau greffée, à la zone située entre ce manchon et le niveau d'amputation et enfin au régénérat. La comparaison du degré de ploïdie de l'épiderme des zones II, III et IV est faite par rapport à celle de la zone I (Tableaux 26 et 27). Le degré de ploïdie des populations peut varier suivant les zones et correspondre alors à  $2n$  ou  $3n$ . Quand la quantité d'ADN des noyaux cellulaires est semblable dans toutes les zones étudiées, l'épiderme est diploïde.

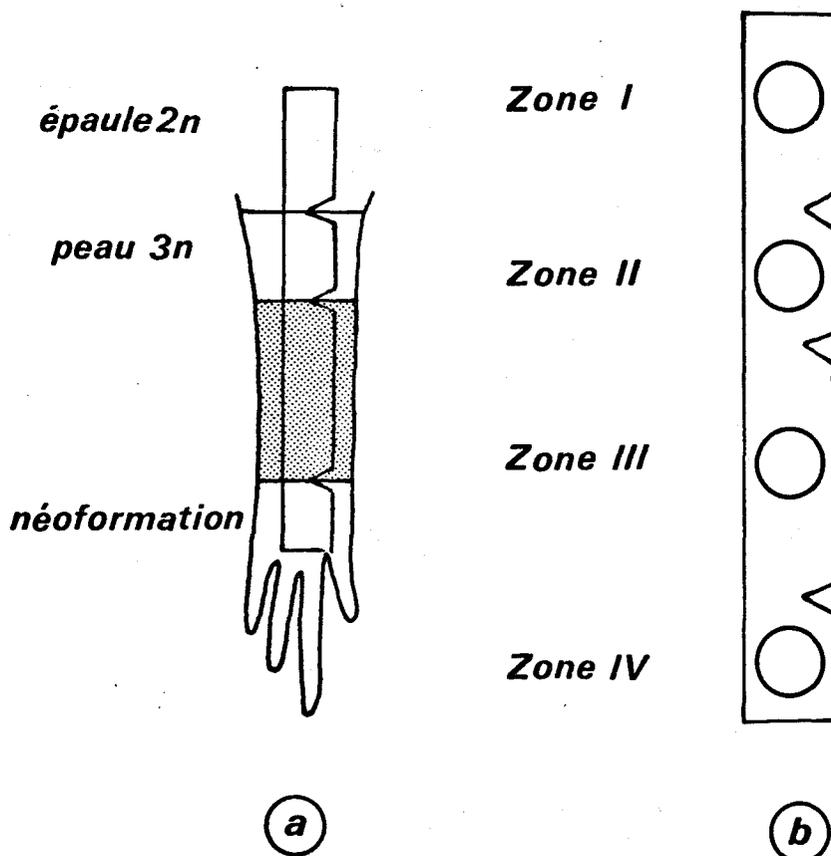


Fig. 55 a - Délimitation des zones de la bande de peau prélevée sur le membre irradié sur lequel la néoformation distale s'est développée.

b - Après séparation de l'épiderme et sa fixation, quatre populations de cellules matérialisées par quatre cercles sont isolées et étalées sur des lames porte-objet qui seront collodionnées, hydrolysées et colorées.



Tableau 26 - Mesures des quantités d'ADN des noyaux cellulaires épidermiques :  
Grandeur des échantillons, moyennes et écarts-types.

	Nb de jours après opération	Zone I			Zone II			Zone III			Zone IV			
		n	$\bar{x}_1$	s	n	$\bar{x}_2$	s	n	$\bar{x}_3$	s	n	$\bar{x}_4$	s	
3693	200	28	360,36	33,42	28	366,82	46,49	31	347,61	36,33	26	364,00	39,32	
3791	a	114	100	455,32	35,27	35	433,94	37,96	100	665,22	57,48	97	698,81	59,84
	b	144	33	286,18	25,57	30	265,70	27,74	32	251,75	24,49	33	452,00	39,32
3802	143	29	448,86	65,42	30	563,47	63,44	30	586,80	66,11	30	525,23	51,37	
3804	112	100	434,02	35,60	100	622,14	73,84	99	658,68	52,59	100	639,91	46,85	
3808	141	29	333,14	27,87	28	371,61	29,45	11	324,09	36,97	24	564,21	53,33	
								17	553,82	72,82				
4077	42	31	197,16	26,39	32	355,03	28,46	30	320,93	24,67	34	322,62	25,63	

Tableau 27 - Comparaison de degrés de ploïdie de l'épiderme le long des membres.  
Rapports des moyennes des zones II, III et IV à celle de la zone I.  
Ploïdies dans chaque zone

	$\frac{\bar{x}_2}{\bar{x}_1}$	$\frac{\bar{x}_3}{\bar{x}_1}$	$\frac{\bar{x}_4}{\bar{x}_1}$	Ploïdies des zones				Nombre de jours après l'opération
	I	II	III	IV				
4077	1,80	1,63	1,64	2n	3n	3n	3n	42
3804	1,43	1,52	1,47	2n	3n	3n	3n	112
3791 a	0,95	1,46	1,47	2n	2n	3n	3n	114
3808	1,11	1,66	1,69	2n	2n	3n	3n	141
		0,97				2n		
3791 b	0,93	0,88	1,58	2n	2n	2n	3n	144
3802	1,15	1,20	1,07	2n	2n	2n	2n	143
3693	1,02	0,92	1,01	2n	2n	2n	2n	200

Nous avons observé quatre types de résultats (tableau 27). Les zones I, II, III, IV, peuvent correspondre aux degrés de ploïdie respectifs suivants :

2n - 3n - 3n - 3n  
2n - 2n - 3n - 3n  
2n - 2n - 2n - 3n  
2n - 2n - 2n - 2n

Les figures 56, 57 et 58 représentent les histogrammes de fréquence des cellules épidermiques de 3 membres. Les populations sont homogènes, mais on observe parfois un mélange de cellules à 2n et à 3n (Fig. 58). La figure 56 montre que l'épiderme triploïde greffé a remplacé tout l'épiderme irradié du membre. La figure 57, a présente la répartition de l'épiderme triploïde provenant du greffon et de l'épiderme diploïde non irradié provenant de l'épaule, ce dernier recouvrant le derme triploïde du greffon. Un mois plus tard (Fig. 57, b) l'épiderme triploïde ne se retrouve que dans l'extrémité régénérée (zone IV). La zone III de la figure 58 se situe à la limite des épidermes triploïde et diploïde non irradiés.

### 3 - DISCUSSION

L'examen des résultats que nous venons de présenter conduit aux conclusions suivantes : (1) l'épiderme est indispensable à la régénération ; (2) il est apte à migrer vers l'extrémité distale du membre ; (3) la migration intéresse aussi l'assise de Malpighi de l'épiderme. Nous discuterons de ces points et de la destinée des cellules épidermiques, problème lié à celui de la migration de l'épiderme.

#### a) Précision des résultats de la série 70

Le caractère diploïde ou triploïde des cellules est déduit des rapports des moyennes des quantités d'ADN des cellules épidermiques de chacune des zones II, III et IV à celle de la zone I (Tableau 26). Au début de ce mémoire, nous avons établi que les mesures effectuées sur des échantillons de 50 cellules devaient permettre de définir le caractère triploïde des cellules quand les rapports de leurs moyennes à celles des témoins étaient compris entre 1,47 et 1,53. La variabilité des résultats de cette série ne peut s'expliquer que par une décoloration, les préparations n'ayant pas été protégées de la lumière. Nous renouvelons et complétons actuellement toutes ces expériences.

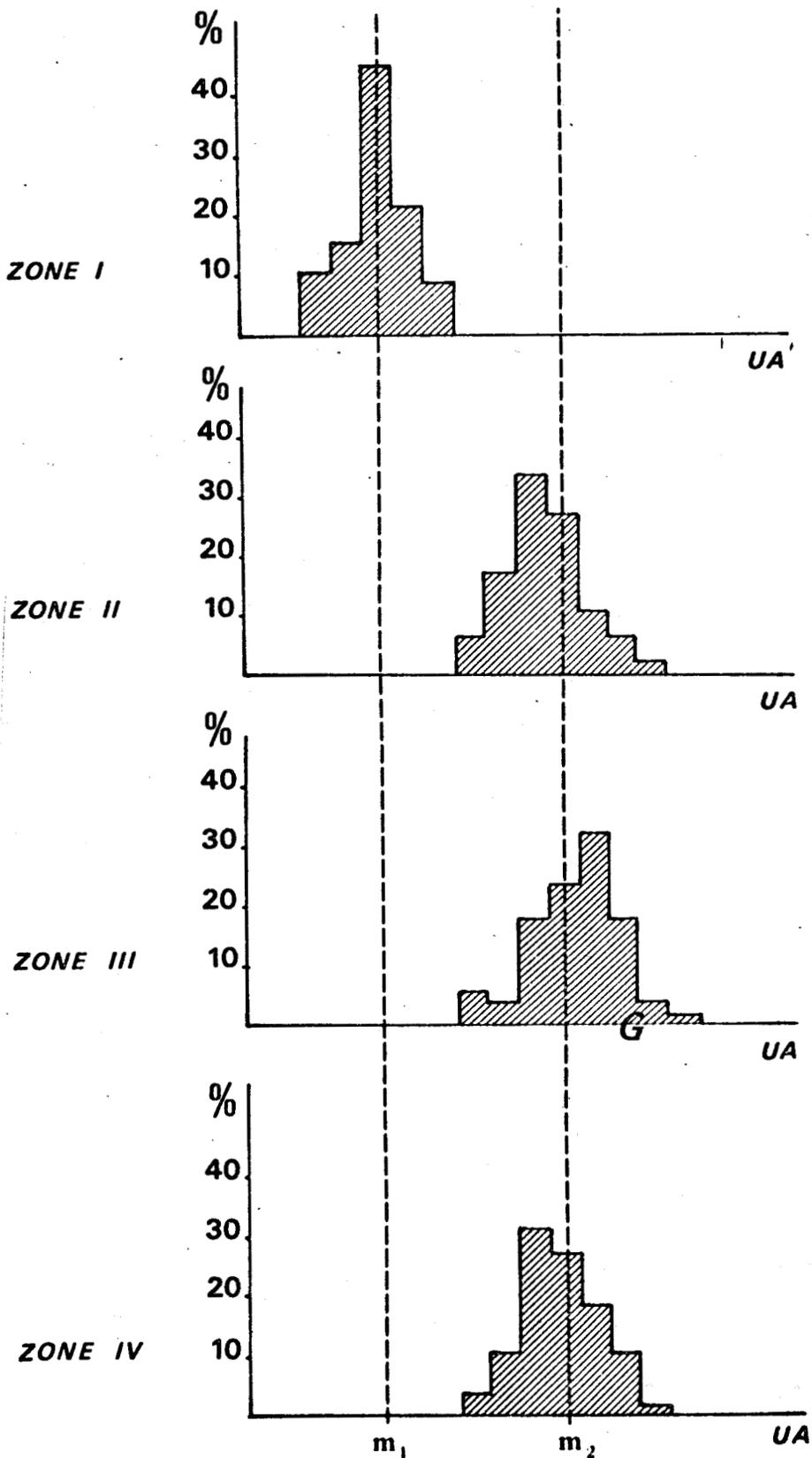


Fig. 56 - Histogrammes de fréquence des mesures quantitatives d'ADN des cellules épidermiques du membre droit du numéro 3804.  
En ordonnée : pourcentage de noyaux dans chaque classe.  
En abscisse : quantité d'ADN en UA (unités arbitraires).  
 $m_1$  : moyenne des mesures de la zone I ;  $m_2 = 1,5 m_1$ .



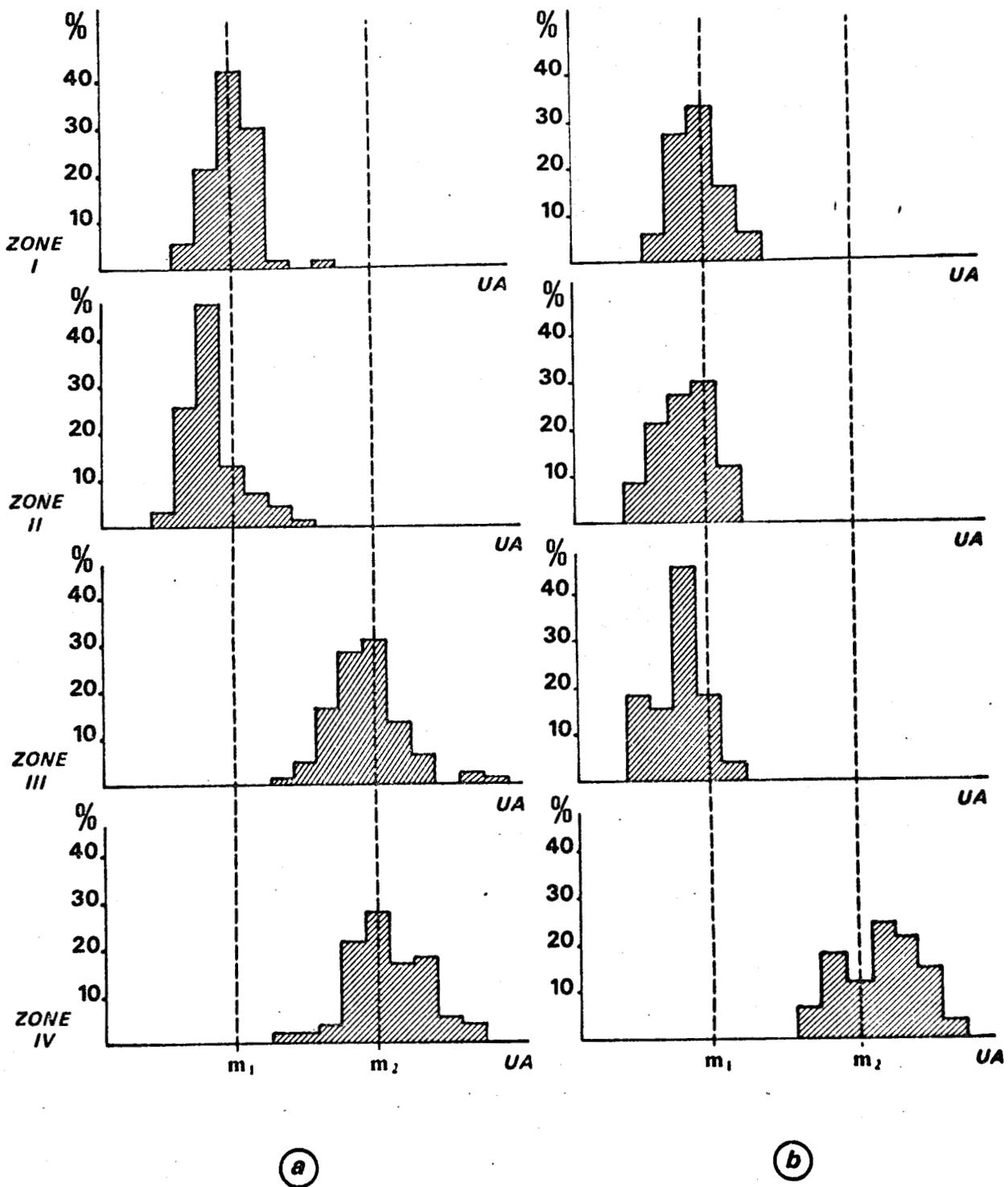


Fig. 57 - Histogrammes de fréquence de mesures quantitatives d'ADN des cellules épidermiques du membre droit du numéro 3791.

- a - 114 jours après l'opération.
- b - 144 jours après l'opération.

En ordonnée : pourcentage de noyaux dans chaque classe.  
En abscisse : quantité d'ADN en UA (unités arbitraires).  
 $m_1$  : moyenne des mesures de la zone I ;  $m_2 = 1,5 m_1$ .



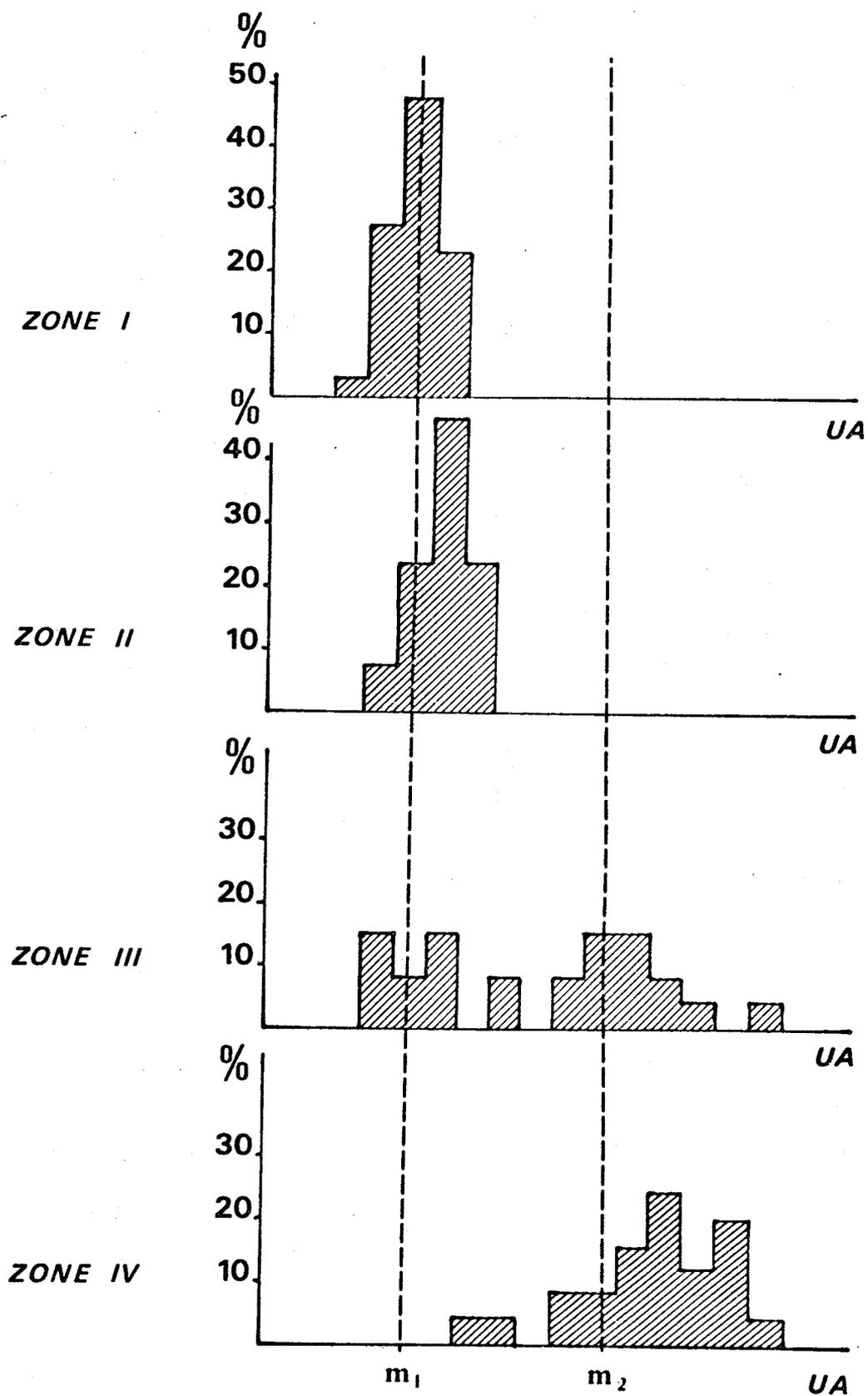


Fig. 58 - Histogrammes de fréquence des mesures quantitatives d'ADN des cellules épidermiques du membre droit du numéro 3808. En ordonnée : pourcentage de noyaux dans chaque classe. En abscisse : quantité d'ADN en UA (unités arbitraires).  $m_1$  et  $m_2$  : voir figure 56.



b) Rôle de l'épiderme

Chez les Amphibiens, la formation et le maintien du blastème de régénération sont conditionnés par la présence de l'épiderme. Son ablation répétée empêche le développement du blastème de régénération (THORNTON, 1957). Cette conclusion se vérifie également dans la morphogénèse du bourgeon de membre d'embryon de Poulet (SAUNDERS, 1948 ; AMPRINO et CAMOSSO, 1955).

Nos résultats montrent donc que la présence d'un épiderme irradié a les mêmes effets que l'absence d'épiderme.

De plus il a été montré que la croissance du bourgeon de membre de *Xenopus laevis* (TSCHMI, 1957) ou celle du blastème de régénération d'Urodèle (STOCUM, 1968 ; MICHAEL et FABER, 1971 ; STOCUM et DEARLOVE, 1972) dépendait de la présence de l'épiderme. La suppression du contact entre l'épiderme apical et le mésenchyme sous-jacent a pour conséquence un arrêt de la mise en place des structures les plus distales. FABER (1960, 1965) prête à l'ectoderme un rôle dans l'établissement d'un centre de prolifération apical (à ce sujet, voir également les revues de FABER, 1971, 1976).

L'importance de l'épiderme du blastème a été soulignée par TASSAVA et MESCHER (1975) qui supposent que l'épiderme place les cellules différenciées dans le cycle de mitose. Un rôle de phagocytose des cellules épidermiques a également été montré au niveau du moignon d'amputation (OVERTON, 1950 ; TABAN, 1955).

c) Migration et destinée des cellules épidermiques

Nous avons montré que la migration distale de l'épiderme se faisait sur toute son épaisseur. Bien que nous ne l'ayons pas démontré, cet épiderme doit remplacer rapidement l'épiderme irradié afin que la morphogénèse induite par l'implantation de muscles non irradiés dans la région distale de l'avant-bras, puisse avoir lieu. En effet, ces muscles non irradiés, en l'absence d'épiderme non irradié n'assurent pas la formation d'un blastème (série 69). De plus, l'étude comparative des épidermes des membres analysés démontre que les régénérats distaux sont recouverts d'épiderme non irradié.

Nous distinguons ce remplacement rapide de l'épiderme irradié par de l'épiderme non irradié, de la migration lente mais continue de l'épiderme non irradié sur toute son épaisseur. Cette vitesse est de l'ordre de 2 à 3 mm par mois, comme semble l'indiquer la figure 57, de sorte qu'au bout de 5 à 6 mois l'épiderme du membre ait été totalement renouvelé.

Cette migration épidermique a également été mise en évidence dans le membre de Poulet en croissance (KIENY et PAUTOU, 1976). Ces auteurs ont observé, à la suite d'associations xénoplastiques caille/poulet de bourgeons de membre, un glissement en direction distale de l'épiderme de poulet sur le mésoderme de caille.

En 1952, HAY a remplacé la peau d'un membre de têtard de *Rana pipiens* par de la peau de queue triploïde afin de rechercher la destinée des cellules épidermiques. Elle a montré qu'il y avait migration de l'épiderme. L'histoire de la destinée des cellules épidermiques et le problème de leur éventuelle participation à la composition du blastème sont liés à la migration épidermique. Tout d'abord de nombreux auteurs constatent que les cellules de l'épiderme d'un membre irradié se divisent tout comme celles d'un membre normal (BRUNST, 1944, cité par LAGAN, 1961 ; TRAMPUSCH, 1958 ; ROSE et ROSE, 1965 ; MADEN et WALLACE, 1976). MADEN et WALLACE (1976) constatent que l'indice mitotique de l'épiderme du membre irradié redevient égal à celui d'un épiderme non irradié six jours environ après l'irradiation X. Nous expliquons aisément ce résultat en considérant que l'épiderme irradié est rapidement remplacé par de l'épiderme non irradié. ROSE et ROSE (1965) observent 5 heures après l'injection de thymidine tritiée à des animaux dont le bras a été irradié, que les cellules épidermiques sont marquées, que l'amputation ait été faite le jour même ou la veille. Mais comme l'irradiation de ces membres précède toute autre opération de 10 à 12 jours, un tel résultat se comprend si on admet que l'épiderme irradié est rapidement renouvelé. L'observation d'un épiderme dont les cellules se divisent, l'existence de langues épidermiques profondes dans le mésenchyme du blastème et le marquage de cellules au sein de ce dernier ont conduit certains auteurs à admettre l'existence d'une métaplasie de l'épiderme (ROSE, 1948 ; HAY, 1952 ; ROSE *et al.*, 1955 ; ROSE et ROSE, 1965). Nous admettons, après ROSE (1970) la possibilité d'un transfert de marquage radioactif d'un tissu à un autre comme l'a montré STEEN (1968). De plus il semble que dans certains cas l'irradiation n'ait pas été suffisante surtout lorsque ROSE *et al.* (1955) reconnaissent que le pourcentage de régénération des membres irradiés diminue quand on augmente la dose d'irradiation. Il faut noter que l'hypothèse d'une métaplasie de l'épiderme a été combattue et rejetée par CHALKEY (1959) et RIDDIFORD (1960). BARR (1964) démontre que dans la régénération du membre larvaire de Xénope dans lequel l'épiderme a des noyaux cellulaires à deux nucléoles et les tissus internes, un seul nucléole, la destinée des cellules épidermiques ne peut pas être modifiée, aucune cellule à deux nucléoles n'ayant été retrouvée dans les tissus internes.

## B - DESTINÉE DES TISSUS GREFFÉS SUR LE MOIGNON DES MEMBRES IRRADIÉS

### 1 - EXPERIENCES

Nous avons vu qu'un manchon de peau tout comme l'association de muscles dorsaux et ventraux de bras induisaient la régénération d'un membre irradié.

Quel(s) tissu(s) des néoformations le derme de la peau greffée ou le muscle greffé sont-ils capables de produire ? Afin d'essayer de répondre à cette question, nous avons greffé de la peau triploïde ou des muscles triploïdes sur le moignon de membres irradiés d'animaux diploïdes. Après régénération, le degré de ploïdie de chaque tissu des néoformations est analysé et comparé à celui des témoins diploïdes prélevés sur le membre postérieur du même animal.

Les résultats, bien que très fragmentaires, nous ont semblé suffisamment intéressants pour figurer dans ce mémoire.

### 2 - RESULTATS

#### a) Grefe de peau

La peau greffée induit la formation d'un membre. Le muscle semble absent des régénérats. Des membres ont été fixés en vue d'une prochaine étude histologique. L'analyse a donc porté sur le cartilage et sur le derme d'un seul membre. La figure 59 montre que le derme et le cartilage sont triploïdes. Les cellules diploïdes irradiées du moignon n'ont sans doute pas participé à l'histogenèse de la néoformation.

#### b) Grefe de muscle

Du muscle dorsal associé à du muscle ventral permet le développement d'un membre où tous les tissus sont présents. Ici encore un seul membre a été analysé et la figure 60 montre que le muscle et le cartilage sont composés essentiellement de cellules triploïdes. Par contre, l'analyse de la peau n'apparaît pas sur le tableau car l'extrémité régénérée était fortement pigmentée et l'étalement du derme n'a permis que quelques mesures. De plus la dizaine de noyaux pour lesquels les mesures ont été possibles se sont révélés diploïdes. De nouvelles opérations sont en cours.

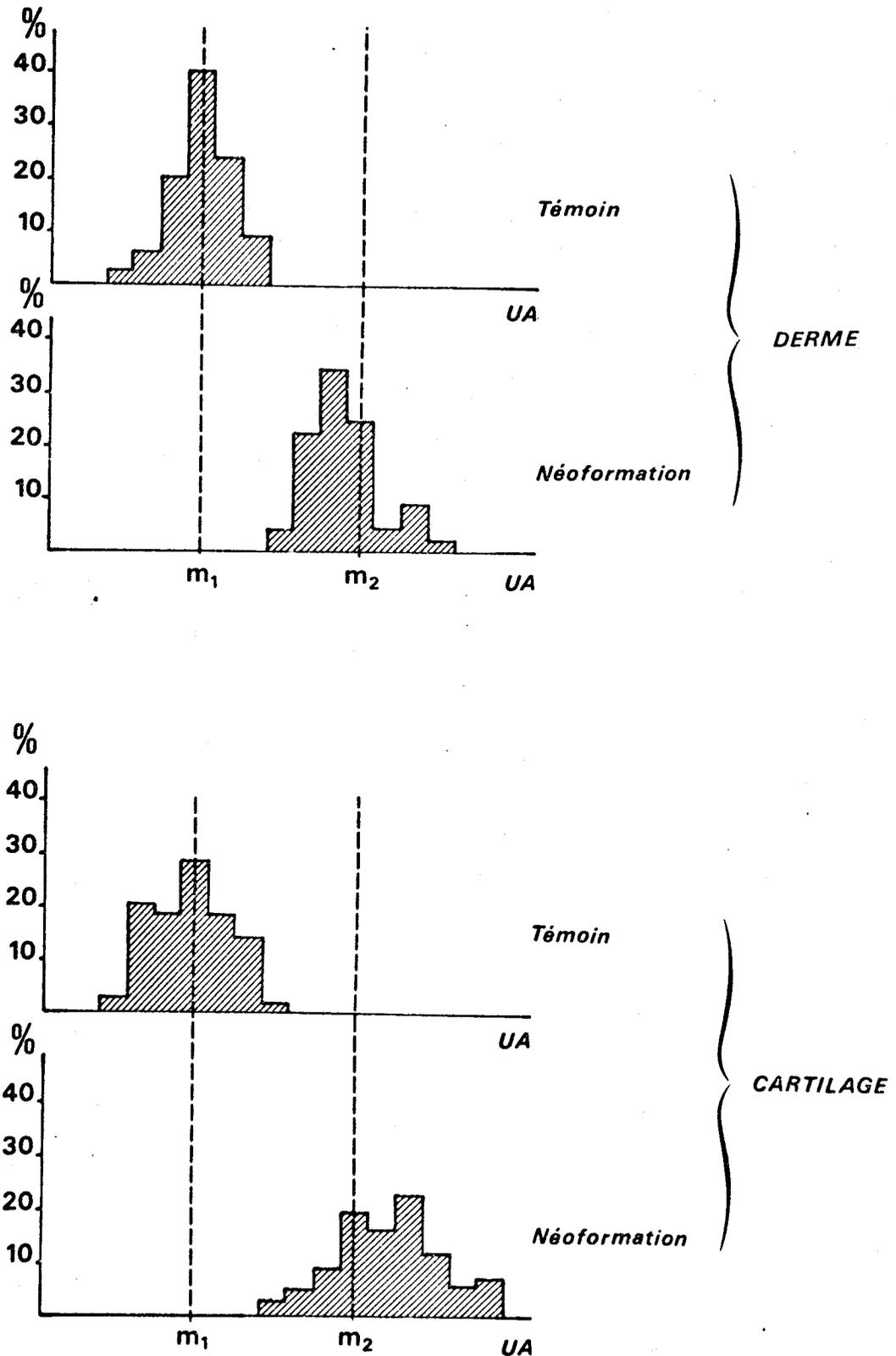


Fig. 59 - Greffe de peau triploïde : Histogrammes de fréquence des mesures quantitatives d'ADN des cellules dermiques et cartilagineuses. En ordonnée : pourcentage de noyaux dans chaque classe. En abscisse : quantité d'ADN en UA (unités arbitraires).  $m_1$  : moyenne des mesures des témoins ;  $m_2 = 1,5 m_1$ .



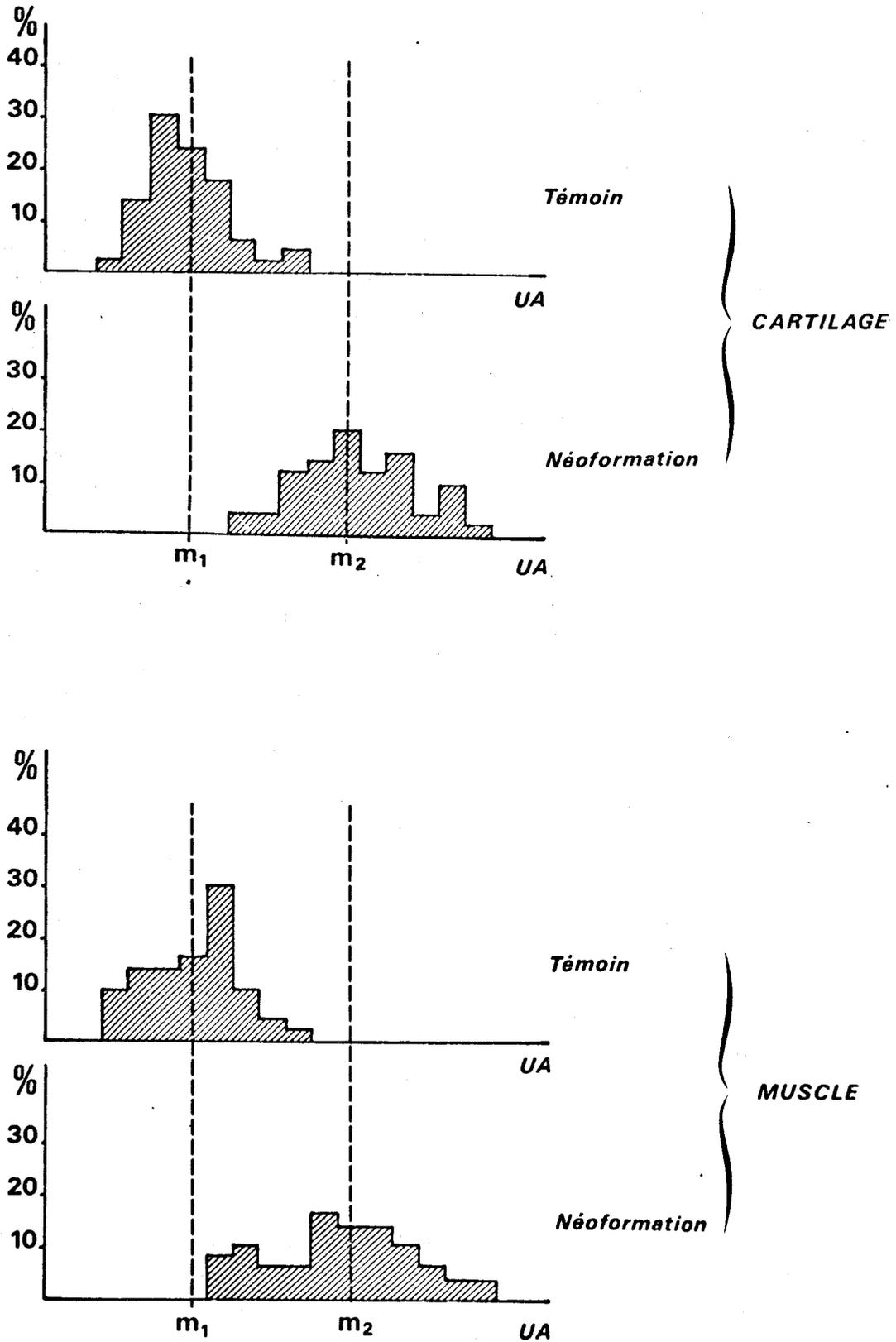


Fig. 60 - Greffe de muscles triploïdes : Histogrammes de fréquence des mesures quantitatives d'ADN des cellules cartilagineuses et musculaires.  
En ordonnée : pourcentage de noyaux dans chaque classe.  
En abscisse : quantité d'ADN en UA (unités arbitraires).  
 $m_1$  : moyenne des mesures des témoins ;  $m_2 = 1,5 m_1$ .



### 3 - DISCUSSION

Le problème de l'interconvertibilité des tissus du membre a été abordé au moyen d'études expérimentales, histologiques accompagnées de techniques utilisant les marqueurs radioactifs ou biologiques sur des membres normaux ou sur des membres irradiés sur lesquels des morphogenèses ont été induites.

#### a) Tissus du membre participant à la constitution du blastème de régénération

La recherche de l'origine des cellules du blastème de régénération a été basée sur des études histologiques des moignons d'amputation de membre au cours de la régénération. Une analyse de ces travaux a été faite dans plusieurs articles de revue (GOSS, 1969 ; ROSE, 1964 ; THORNTON, 1968). La différenciation histologique a été observée au niveau du cartilage (BUTLER, 1933) et des muscles (THORNTON, 1938). Celle-ci a été confirmée par des études ultrastructurales (HAY, 1958, 1959, 1962 ; SALPETER et SINGER, 1962 ; LENTZ, 1969) ou immuno-chimiques (DE HAAN, 1956 ; LAUGER, 1959). CHALKEY (1954, 1959) fait une analyse quantitative des tissus du membre en régénération. Le volume relatif de chaque tissu, le nombre de cellules et de mitoses dans chacun d'eux sont évalués aux différents stades de la régénération. Une estimation de la participation relative des différentes catégories cellulaires est faite et l'auteur conclut que tous les tissus du moignon participent, à des degrés variables, à la constitution du blastème. De plus, les tissus néoformés dériveraient des tissus correspondants du moignon.

La synthèse d'ADN de chaque catégorie cellulaire aux différentes périodes suivant l'amputation a été très bien analysée par HAY et FISCHMAN (1961). L'épiderme multiplie activement ses cellules au cours des deux jours qui suivent l'amputation puis le rythme de division diminue fortement, tandis que dans les cellules des tissus internes, les divisions commencent quatre à cinq jours après l'amputation et se poursuivent au cours de la période de croissance du régénérat.

Il semble donc bien établi que tous les tissus du moignon participent à la constitution du blastème de régénération.

#### b) Interconvertibilité des tissus du membre non irradié

Cette étude peut se faire par ablation sélective d'un type tissulaire, par induction de morphogenèse à partir d'une catégorie de tissu sur un territoire neutre ou par observation de la destinée de tissus marqués incorporés aux tissus du moignon d'amputation.

L'ablation élective du squelette (BISCHLER, 1925 ; BISCHLER et GUYENOT, 1925 ; WEISS, 1926 ; THORNTON, 1938) n'empêche pas la différenciation d'un squelette dans le régénérat. Des tranches de membres, sans peau, greffées sur la tête se développent en membres normaux (UMANSKI et KUDOKOTSEV, 1949). Sur le flanc d'*Ambystoma mexicanum*, TRAMPUSCH et HARREBOME (1969) greffent à la fois de la peau de membre postérieur et une tête de fémur ou de la peau de membre et du muscle gastrocnémien. Des membres où les différents tissus sont présents, se forment dans les deux cas et les auteurs concluent à l'interconvertibilité des différents types cellulaires.

On a également essayé de suivre la destinée de cellules marquées introduites dans le moignon d'amputation d'un membre d'Urodèle. Le cartilage triploïde n'a donné naissance qu'à du cartilage triploïde (PATRICK et BRIGGS, 1964 ; STEEN, 1967). Le muscle triploïde entre dans la constitution du muscle et du cartilage du régénérat (STEEN, 1967).

De cet ensemble d'études nous pouvons conclure que le derme et le squelette peuvent être mis en place à partir de cellules provenant d'un autre tissu du membre d'origine mésodermique.

c) Destinée des tissus greffés sur le moignon  
d'un membre irradié

Nous avons vu que la greffe de tissus divers de membre pouvait induire la régénération d'un membre irradié. Cette méthode peut être utilisée pour l'étude de la destinée des tissus greffés à condition qu'ils participent seuls à la constitution de la néoformation. Or le recouvrement de la capacité des tissus irradiés à régénérer (POLEZAJEW, 1959 ; POLEZAJEW et ERMAKOVA, 1960 ; POLEZAJEW *et al.*, 1963 ; DESSELLE, 1968) ou la participation partielle des tissus irradiés à la régénération (LIOSNER, 1947 ; SIDOROVA, 1949 ; LAGAN, 1961) nous obligent à être prudents. Le marquage radioactif n'est pas non plus exempt de critique. Ainsi, DESHA (1974) injecte de la thymidine tritiée à des tritons, irradie leurs membres, les ampute et induit la régénération par greffe de peau. L'auteur retrouve des cellules marquées dans le blastème, et conclut à la participation de cellules du moignon irradié à la formation du blastème. A notre avis, cette conclusion est possible et ne préjuge pas de la destinée de ces cellules mais il a pu aussi y avoir transfert de radioactivité. Le marquage biologique est moins ambigu bien que la présence des nucléoles puisse échapper à l'observation (voir à ce sujet la

critique de HAY, 1952). Une intéressante étude a été faite sur la destinée de divers tissus de membre d'Axolotl non irradiés, triploïdes, greffés sur le moignon d'amputation d'Axolotl irradiés diploïdes (NAMENWIRTH, 1974 ; DUNIS et NAMENWIRTH, 1977). L'observation histologique et la recherche des noyaux triploïdes ont permis à NAMENWIRTH (1974) de conclure que les tissus osseux peuvent fournir des cellules au squelette, au derme et autres tissus conjonctifs mais pas aux muscles. NAMENWIRTH (1974) remarque toutefois que l'association de cartilage triploïde et de muscle diploïde conduit à la régénération d'un membre où tous les tissus sont représentés. Quelques cellules triploïdes sont observées dans la musculature. Rappelons qu'EGGERT (1966) chez *Triturus viridescens* n'observe que des nodules cartilagineux dans les excroissances régénératrices obtenues après greffe de cartilage sur le moignon d'un membre irradié. WALLACE *et al.* (1974) renouvellent cette observation quand l'opération est répétée sur des larves d'*Ambystoma mexicanum* dont la taille est comprise entre 70 et 80 mm. L'opération effectuée sur des stades plus jeunes dont la taille varie de 50 à 60 mm, aboutit à la régénération de formations plus développées terminées par 3 ou 4 doigts dans 7 cas sur 20. L'étude histologique révélant la présence de tous les tissus du membre, les auteurs en concluent que les chondrocytes sont à l'origine de tous les types cellulaires mésodermiques du régénérat.

La greffe de peau triploïde (NAMENWIRTH, 1974 ; DUNIS et NAMENWIRTH, 1977) conduit à la régénération de membres irradiés dans lesquels le caractère triploïde se retrouve dans tous les tissus du régénérat. Dans certains membres, tous les tissus sont présents et dans d'autres, la musculature fait défaut. Les auteurs doutent de la pureté des greffons de peau. Quelques fibres musculaires ayant pu accidentellement être transplantées avec la peau pourraient expliquer la présence de tissu musculaire dans certains membres régénérés. UMANSKI (1946) rapporte que le derme est la source d'éléments mésenchymateux à l'origine de tous les tissus du membre à l'exception du tissu musculaire. Nous pouvons confirmer ce résultat.

Le muscle, selon NAMENWIRTH (1974) peut être la source de tous les tissus régénérés. STEEN (1968) montre que le muscle fournit des cellules qui se différencient en chondrocytes. Le résultat de notre seule analyse semble indiquer que le muscle greffé n'a pas fourni les éléments cellulaires du derme du régénérat. Il nous faudra multiplier les cas d'expériences pour confirmer ou infirmer ce résultat.

## CONCLUSION

Le problème de la destinée des divers tissus différenciés dans la régénération n'est pas totalement résolu. Il semble toutefois que l'épiderme ne procède que de cellules épidermiques préexistantes. Les tissus dermiques et squelettiques pourraient être reconstitués à partir de cellules dédifférenciées provenant soit du derme, soit du squelette, soit du muscle. L'origine des cellules musculaires des membres régénérés est encore discutée.

Les résultats que nous avons présentés, bien que fragmentaires, apportent des éléments qualitatifs et quantitatifs nécessaires pour comprendre comment les tissus greffés sur des moignons irradiés participent à la constitution des membres régénérés.

TROISIEME PARTIE

CONTROLE PROXIMO-DISTAL  
DE LA REGENERATION

L'étude du contrôle proximo-distal de la régénération a été envisagée sous les deux aspects suivants. D'une part, l'association de tissus provenant de deux niveaux différents de l'axe proximo-distal se traduira-t-elle par une régulation pour donner naissance à un membre normal ? D'autre part, quelle est la participation des différents tissus du moignon d'amputation dans le contrôle du développement proximo-distal du régénérat ?

## CHAPITRE V

### INTERACTIONS ENTRE BLASTEMES DE REGENERATION ET MOIGNONS D'AMPUTATION DE NIVEAUX PROXIMO-DISTAUX DIFFERENTS DANS LE DEVELOPPEMENT PROXIMO-DISTAL DU MEMBRE EN REGENERATION

Lorsqu'on prélève un blastème de régénération à un niveau distal de membre et qu'on le greffe sur un moignon plus proximal et réciproquement, on introduit, selon les cas des déficiences ou des excédents dans la séquence des éléments des membres opérés. Au cours de la croissance du blastème greffé, allons-nous observer une régulation restituant les parties manquantes ou supprimant les parties excédentaires ? Au cours des dernières années plusieurs auteurs ont montré, à partir d'expériences réalisées chez les Amphibiens, qu'il pouvait y avoir une régulation des déficiences par la mise en place d'un régénérat intercalaire, mais que les excédents n'étaient pas résorbés (SHURALEFF et THORNTON, 1967 ; STOCUM, 1975 ; ITEN et BRYANT, 1975 ; STOCUM et MELTON, 1977 ; BRYANT et ITEN, 1977 ; TANK, 1978).

La régulation des déficiences et des excédents dans le membre a également fait l'objet d'études expérimentales chez l'embryon d'oiseau (HAMPE, 1959 ; KIENY, 1964 a, b, c ; SUMMERBELL et LEWIS, 1975 ; KIENY et PAUTOU, 1976, 1977 ; SUMMERBELL, 1977).

Des morphogénèses intercalaires ont été obtenues chez les Insectes après association de la partie distale d'un article d'appendice et de la partie proximale d'un autre appendice (BOHN, 1970 a, b, 1971, 1976 ; BULLIERE et SENDEL, 1970 a, b ; BART, 1972).

Chez le Pleurodèle nous avons repris les expériences créant des discontinuités selon l'axe *pr-di* puis nous avons tenté de préciser les participations des tissus de faces opposées et de niveaux proximo-distaux différents dans des morphogénèses surnuméraires.

A - DÉVELOPPEMENT PROXIMO-DISTAL DU MEMBRE APRÈS LA GREFFE DE BLASTÈMES SUR DES MOIGNONS SITUÉS EN POSITION PROXIMALE OU DISTALE PAR RAPPORT AU NIVEAU D'ORIGINE DES BLASTÈMES  
(SERIES 71 à 73)

A la suite d'amputations de bras ou d'avant bras, la régénération commence par l'édification d'un blastème qui est prélevé lorsqu'il a la forme d'une palette au stade précoce de la formation des doigts. Sa face dorsale est légèrement pigmentée mais la limite entre le blastème et la souche n'est pas toujours nette. Lors du prélèvement, l'incision est faite le plus près possible de la souche.

I - EXPERIENCES (Fig. 61)

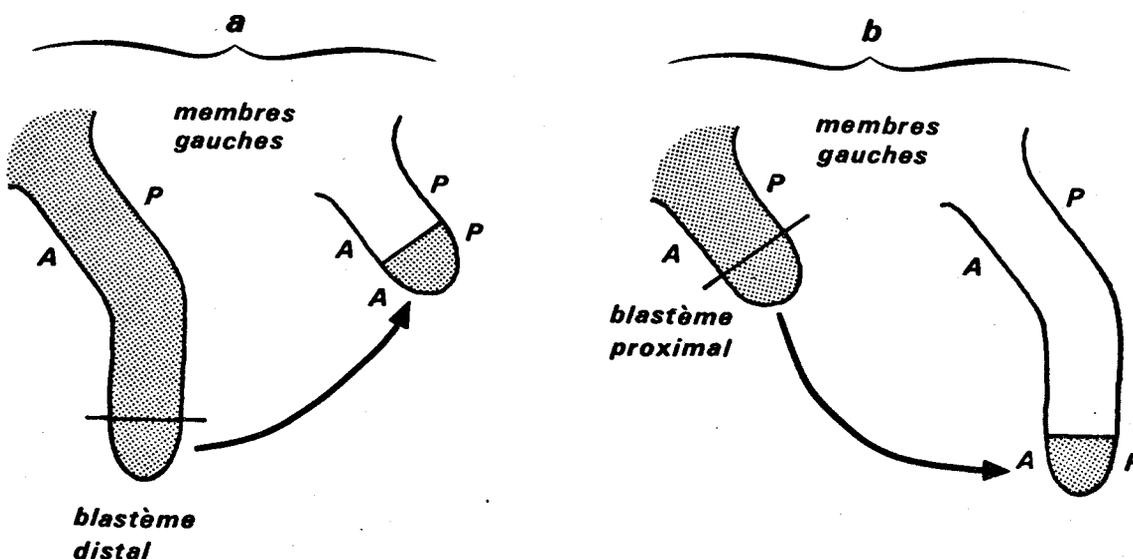


Fig. 61 - Procédure expérimentale utilisée dans les séries 71 (a) et 72 (b).

Série 71 - Des blastèmes d'avant-bras correspondant à la zone distale du zeugopode sont transplantés sur le moignon d'amputation situé au milieu du bras du même membre, sans modifier l'orientation de leurs axes transverses.

Série 72 - Des blastèmes prélevés sur le milieu du bras sont greffés sur les moignons d'avant-bras distaux homopleuraux d'un autre animal. Aucune modification d'axes transverses n'est introduite.

Série 73 - Dans cette série témoin les blastèmes de milieu de bras sont prélevés et aussitôt regreffés dans leur position d'origine.

2 - RESULTATS (Tableau 28)

Tableau 28 - Développement proximo-distal des membres après la greffe de blastèmes proximale ou distale par rapport à leur niveau d'origine.

(1) Trois membres de la série 71 présentent un zeugopode dont les os sont soudés entre eux.

Séries	Nombre de cas	Squelettes des membres régénérés			
		S + A	S + Z + A	S + Z + Z + A	S + Z + S + Z + A
71	31	1	27 + 3 <sup>(1)</sup>		
72	20			3	17
73	32		32		

Remarquons tout d'abord que tous les membres de la série 73 témoin se sont développés normalement. Les seules altérations observées correspondent dans certains cas à l'absence d'un doigt. L'organisation *pr-di* de ces membres est strictement celle de membres normaux (Pl. VIII, a ; Fig. 62, a).

Dans la série 71, l'organisation *pr-di* des membres opérés correspond à celle de membres normaux dans 27 cas sur 31 (Pl. VIII, b, c ; Fig. 62, b). On remarque que le bras distal et l'avant-bras sont normalement développés. Dans 3 cas sur 31, le zeugopode est court et massif

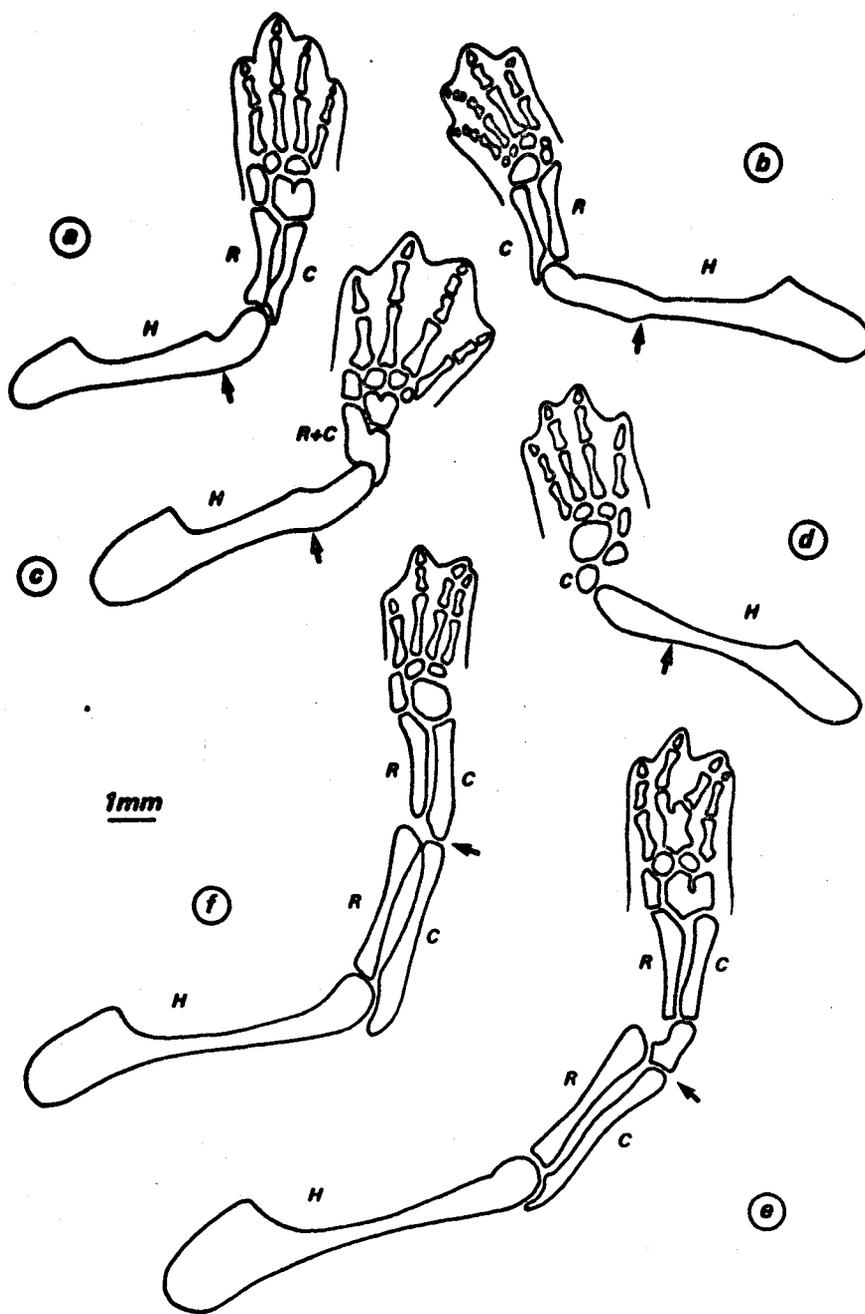


Fig. 62 - Squelettes de membres régénérés des séries 71 à 73.

a - Membre de la série 73 témoin.

b, c, d - Membres de la série 71. b - Membre présentant un squelette normal. Le régénérat intercalaire correspond à la partie de membre réséquée au moment de l'opération. c - Le régénérat intercalaire correspond au stylo-pode distal et au zeugopode mais ce dernier a une longueur relative plus faible que celle du membre de la série témoin. d - Le régénérat intercalaire est composé du seul humérus distal.

e, f - Membres de la série 72. e - Le blastème greffé s'est développé à partir du niveau de greffe en un stylo-pode distal, un zeugopode et un autopode. f - Le stylo-pode distal qui devait être présent dans le blastème ne s'est pas développé.

La flèche indique le niveau du moignon porte-greffe.

(Fig. 62, c) et dans un cas il n'est pas développé bien qu'un petit élément cartilagineux puisse correspondre au cubitus (Fig. 62, d). Le stylo-pode et l'autopode de ce membre sont par contre normalement développés. Enfin, certaines mains présentent un doigt ou une phalange surnuméraires (Pl. VIII, d). Dans 30 cas sur 31, il y a donc une régénération intercalaire qui rétablit la séquence proximo-distale normale du membre que l'opération avait rendue discontinue.

Les membres de la série 72 présentent des structures excédentaires ce que laissait supposer l'examen des animaux (Pl. VIII, e). Les segments supplémentaires qui s'intercalent entre le zeugopode du porte-greffe et l'autopode correspondent à un stylo-pode et un zeugopode dans 17 cas sur 20 et à un zeugopode dans les 3 autres cas (Pl. VIII, f, g ; Fig. 62, e, f). L'excédent introduit dans la séquence proximo-distale du membre n'a donc pas été résorbé.

### 3 - DISCUSSION

Nous discuterons successivement de la régulation des déficiences et des excédents chez les Vertébrés.

#### a) Régulation des déficiences chez les Vertébrés

Chez le Pleurodèle, l'introduction d'une déficience dans la séquence proximo-distale du membre est suivie de la mise en place des structures intercalaires manquantes. Cette opération réalisée chez le triton *Notophthalmus viridescens* à partir de blastèmes plus jeunes conduit aussi à une régulation totale des déficiences (ITEN et BRYANT, 1975).

Par contre, lorsque des extrémités en régénération où les doigts sont déjà individualisés ou même lorsque des membres complètement différenciés, sont transplantés sur des niveaux proximaux une certaine régénération intercalaire se met en place mais elle est de plus en plus incomplète, au fur et à mesure que le greffon est de plus en plus différencié (STOCUM, 1975 ; BRYANT et ITEN, 1977).

Auparavant SHURALEFF et THORNTON (1967) avaient montré chez l'Axolotl qu'une greffe de pied sur une demi-surface d'amputation de la cuisse n'empêche pas la régénération de s'opérer jusqu'à ce que le pied greffé s'articule avec le niveau correspondant régénéré.

Quelle peut être l'origine du régénérat intercalaire ? STOCUM (1975) tout comme ITEN et BRYANT (1975) observent, sur des préparations histologiques, que les moignons sur lesquels des blastèmes distaux ont été greffés, se différencient sur une plus grande longueur que

ceux des témoins sur lesquels un blastème de même niveau est greffé. De plus leur morphogenèse est retardée. Les auteurs supposent que les éléments intercalaires se forment à partir de cellules du moignon. STOCUM (1975) se réfère également à la loi de la transformation distale (OBERHEIM et LUTHER, 1958 ; ROSE, 1962) selon laquelle un blastème ne forme que les structures distales par rapport à son niveau d'origine. BRYANT et ITEN (1977) suggèrent que les cellules peuvent reconnaître des cellules voisines normalement non adjacentes, ce qui conduirait à leur dédifférenciation et leur division afin d'intercaler les valeurs de position manquantes. Il est difficile de dire quels sont les tissus qui contrôlent la régénération intercalaire, la seule donnée qui pourrait être fournie est la participation des tissus du moignon et du greffon à l'édification des régénérats intercalaires. Avec les résultats obtenus jusqu'à présent on ne peut certifier que le moignon participe seul à la constitution de ces régénérats, surtout que DE BOTH (1970) a montré que des blastèmes distaux groupés pouvaient élaborer des structures plus proximales que celles de leur niveau d'origine. Seule l'utilisation de marqueurs biologiques pourra fournir des données fiables. Chez les oiseaux, le bourgeon de membre de l'embryon de Poulet constitue un système différent de celui du membre en régénération, mais néanmoins une régulation des déficiences a été mise en évidence (HAMPE, 1959 ; KIENY, 1964 a, c ; KIENY et PAUTOU, 1977). Cette régénération intercalaire est constituée en partie de cellules dérivant de la base et en partie de cellules provenant de l'apex comme le montrent les combinaisons xénoplastiques poulet/caille (KIENY et PAUTOU, 1977). De tels résultats permettent de mettre en doute le modèle de SUMMERBELL *et al.* (1973) selon lequel, plus une cellule (ou ses ascendants) a subi de mitoses dans la zone de croissance (progress zone) du bourgeon de membre d'oiseau, plus elle se distalise. Selon ce mécanisme, il serait impossible à toute cellule d'acquérir une valeur de position nettement plus proximale.

b) Régulation des excédents chez les Vertébrés

Nos résultats montrent l'absence de régulation dans la séquence proximo-distale des membres régénérés de Pleurodèle, quand un blastème de bras est greffé sur un moignon d'avant-bras distal. Des résultats semblables ont été observés à partir d'expériences équivalentes réalisées chez les Urodèles par STOCUM (1975), ITEN et BRYANT (1975), BRYANT et ITEN (1977), STOCUM et MELTON (1977), TANK (1978). Les niveaux proximaux des blastèmes ne sont pas résorbés quand on les met en contact avec les niveaux plus distaux des moignons d'avant-bras. Les blastèmes greffés se développent de façon autonome.

Chez l'embryon de poulet des transplantations de bourgeons de membres sur des niveaux plus distaux ont également été réalisées (HAMPE, 1959 ; KIENY, 1964 a, b ; SUMMERBELL et LEWIS, 1975 ; KIENY et PAUTOU, 1976). La régulation n'a pas été observée par SUMMERBELL et LEWIS (1975) tandis qu'HAMPE (1959), KIENY (1964, b), KIENY et PAUTOU (1976) observent à côté de cas d'absence de régulation, des cas où une certaine régulation se manifeste dans le nombre de segments développés du membre. Toutefois, sous cette apparente régulation, il est possible d'observer soit deux os stylopodiaux contigus, soit deux cubitus contigus, l'un provenant de la base porte-greffe et l'autre provenant de l'extrémité greffée.

Chez les Vertébrés, entre les membres d'Urodèles en régénération et les membres d'oiseaux en croissance, les résultats ne nous semblent pas différer fondamentalement. La régulation des déficiences s'observe lorsque les stades auxquels les apex de bourgeons ou les blastèmes de membres greffés sont "jeunes". Elle diminue quand ces stades sont de plus en plus âgés ou différenciés. La régulation des excédents n'a pas lieu chez le membre d'Urodèle en régénération pas plus que chez le membre de poulet en croissance, les membres à trois segments obtenus par KIENY et PAUTOU (1976) ne pouvant être considérés comme le résultat d'une régulation complète.

B - DÉVELOPPEMENT PROXIMO-DISTAL ET MORPHOGENÈSES SURNUMÉRAIRES APRÈS GREFFES HÉTÉROPLEURALES DE BLASTÈMES SUR DES MOIGNONS D'AMPUTATION PROXIMALEMENT OU DISTALEMENT PAR RAPPORT À LEUR NIVEAU D'ORIGINE  
SERIES 74 et 75

Ces greffes ont été réalisées afin de rechercher à quel niveau de l'axe proximo-distal des formations surnuméraires induites par contact entre tissus de faces opposées peuvent apparaître, et quel est le degré de développement de ces formations compte tenu de la différence des positions proximo-distales initiales des tissus mis en contact.

1 - EXPERIENCES (Fig. 63).

L'amputation du membre gauche au milieu du bras et du membre droit au tiers distal de l'avant-bras conduit à la formation de blastèmes en position proximale ou distale. Ces blastèmes sont transplantés au stade de palette avec doigts à peine ébauchés.

Série 74 - La transplantation hétéropleurale du blastème de bras gauche est effectuée sur le moignon de l'avant-bras droit après avoir ôté le blastème qui s'y était formé. Une opposition des axes *a-p* du greffon et du porte-greffe est réalisée (Fig. 63, a<sub>1</sub>-b<sub>2</sub>).

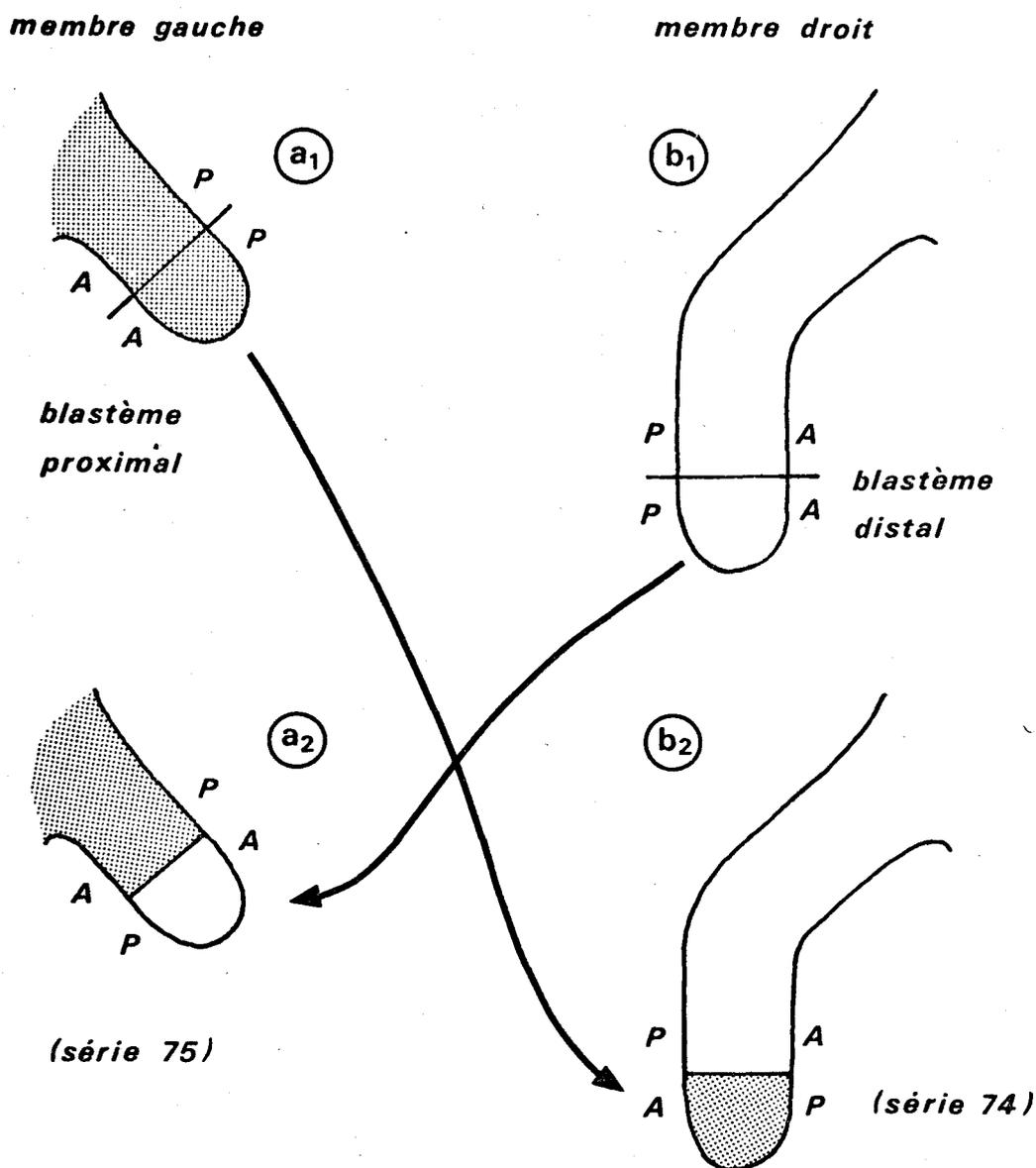


Fig. 63 - Procédure expérimentale des séries 74 et 75.

- a<sub>1</sub> - Membre gauche ayant formé un blastème de régénération après l'amputation effectuée au milieu du bras.
- b<sub>1</sub> - Membre droit ayant formé un blastème de régénération après l'amputation effectuée au milieu de l'avant-bras.
- a<sub>2</sub> et b<sub>2</sub> - Echanges des blastèmes entre membres droit et gauche. La greffe hétéropleurale des blastèmes s'accompagne d'une inversion du seul axe *a-p* des greffons par rapport à celui des moignons porte-greffe.



Tableau 29 - Greffes hétéropleurales de blastèmes distaux sur des moignons proximaux et réciproquement.

Séries	Nb de cas	Niveau le plus proximal où apparaissent les formations surnuméraires		Degré de régénération					Squelette du zeugopode de l'extrémité double ou triple					Localisation des formations surnuméraires			
				Membres simples		Membres à formations surnuméraires			2 os	3 os	4 os	5 os	6 os	a	p	v	a + p
				Ori-entation normale	inversion a-p	7 doigts	2 mains	3 mains									
tiers distal avant-bras	carpe																
74	21	13	5	2	1	1	2	15	3	2	5	7	1	2		1	15
75	23	9	10	4			8	11	12	7				7	1		11

Série 75 - La transplantation hétéropleurale du blastème de l'avant-bras droit est effectuée sur le moignon du bras gauche après avoir ôté le blastème qui s'y était formé. Une opposition des axes  $\alpha$ - $p$  du greffon et du porte greffe est réalisée (Fig. 63, b<sub>1</sub>-a<sub>2</sub>).

## 2 - RESULTATS (Tableau 29)

La plupart des membres présentent des formations surnuméraires dans les deux séries d'expériences (Pl. VIII, h, i). Seuls 3 membres sur 21 dans la série 74 sont simples. Deux d'entre eux sont normaux, leur greffon ayant été éliminé. Un seul présente une différenciation du blastème greffé (Fig. 64, a) dont l'orientation  $\alpha$ - $p$  est conforme à celle imposée par l'expérience. Le greffon s'est développé en un stylo-pode distal, un zeugopode et un autopode. Dans la série 74, quand des formations surnuméraires se constituent, le stylo-pode du membre axial est absent. Dans la série 75, 4 membres sur 23 sont des membres simples à orientation normale, témoins également d'une élimination du blastème greffé.

### a) Position des formations surnuméraires sur l'axe proximo-distal des membres

Considérons la partie du membre non affectée par les duplications. Elle représente, dans la série 74 le stylo-pode et les deux-tiers proximaux du zeugopode dans 13 cas sur 18 (Fig. 64, b), et l'ensemble du stylo-pode et du zeugopode dans 5 cas sur 18 (Fig. 64, c). Dans la série 75, la région du membre non affectée par les duplications correspond au stylo-pode et aux deux tiers proximaux du zeugopode dans 9 cas sur 19 (Fig. 64, d), et à l'ensemble du stylo-pode et du zeugopode dans 10 cas sur 19 (Fig. 64, e). Il y a donc eu une régénération intercalaire correspondant au bras distal et à l'avant-bras proximal dans la série 75, et à l'extrémité distale de l'avant-bras dans 5 cas de la série 74.

### b) Degré de développement des formations surnuméraires

Les formations surnuméraires ont des positions antérieures et postérieures par rapport au régénérat axial dérivant du blastème greffé (Tableau 29). Les membres surnuméraires sont des images en miroir des membres axiaux. Le degré de développement du membre axial et des membres surnuméraires est différent dans les deux séries d'expériences.

#### Série 74

Le membre axial est plus ou moins bien développé selon les cas. Il correspond à un autopode dans deux cas, à un autopode et un zeugopode plus

ou moins complet dans 15 cas (Fig. 64, b, c) et à un autopode, un zeugopode et un stylopode distal dans un cas.

Les membres surnuméraires les plus développés se composent d'un autopode et d'un zeugopode (Fig. 64, b). Ils représentent 17 des 32 formations surnuméraires, et se rencontrent aussi bien sur le bord antérieur que sur le bord postérieur du membre axial. Il est difficile de donner la grandeur exacte des os zeugopodiaux des formations surnuméraires par rapport à celle des os correspondants de membres normaux, mais nous pouvons estimer que ces os ont une taille supérieure au tiers de celle des os correspondants de membres normaux.

#### Série 75

Le membre axial correspond à une main bien développée à laquelle s'ajoute dans 8 cas sur 19 l'extrémité distale d'un os du zeugopode (Fig. 64, d).

Les membres surnuméraires ont un développement limité à l'autopode, à moins qu'on ne considère que l'extrémité distale des os du zeugopode fait partie dans certains cas (Fig. 64, d) de la base des formations surnuméraires.

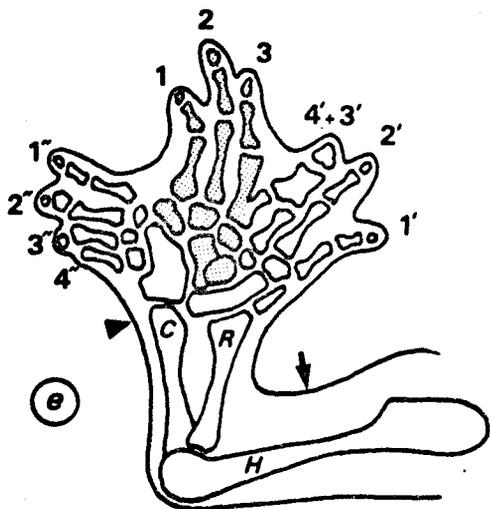
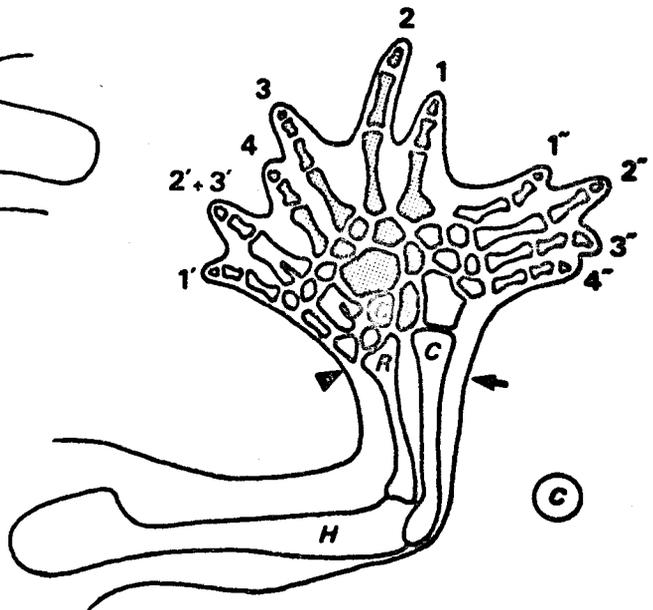
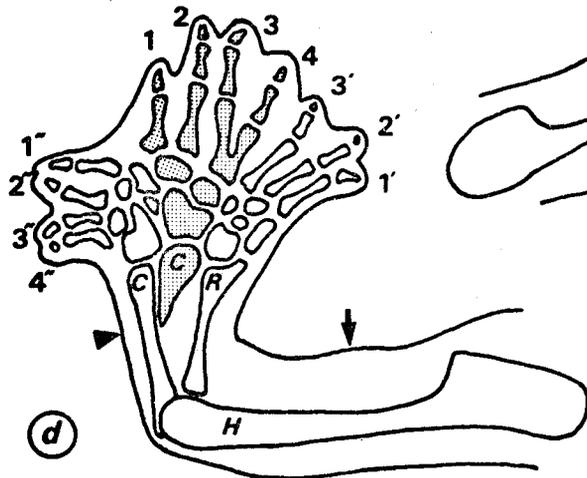
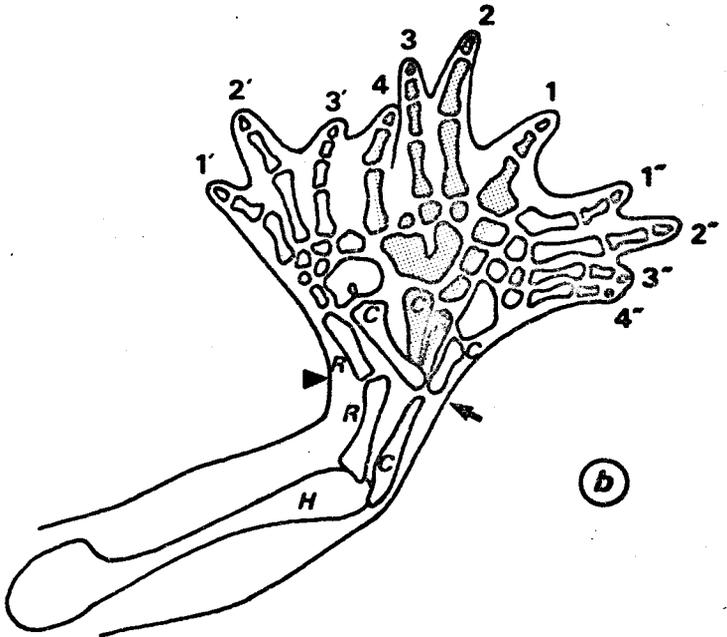
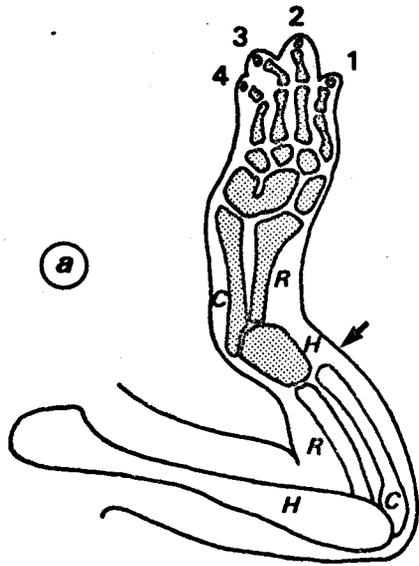
Fig. 64 - Squelettes de membres des séries 74 et 75. Les éléments cartilagineux dérivés du greffon sont en grisé. Les flèches correspondent au niveau du moignon d'amputation ; les triangles correspondent à la limite proximale de formation des membres surnuméraires.

a - Squelette du membre régénéré de la série 74 où le greffon s'est développé sans qu'apparaissent de formations surnuméraires latérales.

b, c, d, e - Membres à formations surnuméraires antérieures et postérieures.

b et c - Membres droits de la série 74.

d et e - Membres gauches de la série 75.



1mm

BUS  
LILLE

### 3 - DISCUSSION

Ces résultats nous amènent à confirmer partiellement les conclusions des expériences des séries 71 et 72. Quand un blastème prélevé à un niveau distal de membre est greffé sur un moignon de membre d'un niveau plus proximal, une régénération intercalaire s'établit afin de rétablir la séquence proximo-distale des segments du membre. Un blastème d'un niveau proximal greffé à un niveau plus distal se différencie en un ensemble de segments dont le développement ne correspond plus au niveau de prélèvement de ce blastème, une déficience des éléments les plus proximaux étant observée. La seule explication qu'on puisse donner à ce résultat est que les cellules correspondant aux segments proximaux ont été utilisées dans la constitution des membres surnuméraires en devenant plus distales.

Dans la série 75, la mise en place de cellules à l'origine des structures intercalaires précède-t-elle le déclenchement de morphogénèses surnuméraires ? La position et la structure des formations surnuméraires permettent de supposer que les éléments intercalaires seraient mis en place avant qu'une morphogénèse surnuméraire ait lieu.

Dans l'association d'un blastème proximal et d'un moignon distal (série 74) quelle peut être l'influence respective des tissus du moignon et du greffon dans la morphogénèse des membres surnuméraires ? Ces derniers ne présentent pas de stylo-pode et leur zeugopode a une longueur inférieure à celle des membres normaux. Nos résultats ne nous permettent donc pas de savoir dans quelles proportions le moignon et le blastème greffé participent à la constitution des membres surnuméraires.

ITEN et BRYANT (1975) et BRYANT et ITEN (1977) ont réalisé des expériences équivalentes à celles de nos séries 74 et 75. En 1975, après des greffes de blastèmes distaux jeunes (cône ou palette jeune) sur des moignons proximaux de membres contralatéraux, elles obtiennent peu de formations surnuméraires et leur degré de développement est faible. En 1977, elles obtiennent des taux de membres à formations surnuméraires équivalents à ceux de nos expériences, en effectuant les mêmes opérations mais avec des blastèmes plus âgés que ceux qu'elles ont utilisés en 1975.

Par contre, quand elles effectuent des transplantations de blastèmes proximaux sur des moignons correspondant au poignet, elles obtiennent des résultats différents des nôtres (ITEN et BRYANT, 1975). Quand deux membres surnuméraires sont formés, l'organisation proximo-distale de l'un d'eux correspond à celle du greffon et celle de l'autre

correspond à la partie distale amputée du moignon (90 cas sur 96). Une telle observation nous rappelle les résultats de l'expérience de DELLA VALLE (1913) et la théorie explicative de PRZIBRAM (1921). ITEN et BRYANT signalent que toutefois, dans les 6 autres cas le degré de développement des deux formations surnuméraires correspond à celui du blastème greffé. Ce résultat est également intéressant, et deux possibilités peuvent être envisagées pour l'expliquer. Dans l'hypothèse où le greffon participe seul à la constitution de ces membres, le contrôle de la morphogenèse serait assuré uniquement par le blastème greffé. Dans l'hypothèse où la morphogenèse surnuméraire serait composée par des cellules du blastème sur l'un de ses bords, le bord antérieur par exemple, et sur l'autre bord par des cellules du moignon comme le montre le membre triple analysé dans la série 4 et représenté par la figure 12, il faudrait admettre que les tissus du moignon sont capables de fournir des cellules à l'origine de tissus plus proximaux que ceux qui leur ont donné naissance. L'utilisation de blastèmes triploïdes permettra peut-être de faire un choix entre ces deux possibilités.

## CONCLUSION

Lorsqu'on effectue des greffes de blastèmes de régénération sur des moignons d'amputation de membres, les déficiences introduites dans la séquence *pr-di* disparaissent. Une régulation se produit au cours de la croissance du membre ; elle correspond à une régénération intercalaire. Par contre, aucune régulation n'apparaît lorsqu'on greffe un blastème sur le moignon dont le niveau est plus distal que le sien. La régénération intercalaire pourrait s'opérer à partir du moignon. Alors les blastèmes greffés se développeraient indépendamment du niveau proximo-distal des moignons sur lesquels il sont greffés.

Un contact entre tissus de faces opposées et de niveaux *pr-di* différents assure la genèse de membres surnuméraires dont le degré de développement ne nous a pas permis d'apporter de conclusions relatives à la participation du moignon et du greffon à leur genèse. L'intéressante question de la transformation d'une cellule distale en une cellule plus proximale a été abordée et des recherches complémentaires doivent être réalisées afin d'apporter une réponse précise à cette question et pour confirmer éventuellement les observations encore trop rares faites à ce sujet chez les Vertébrés.

## CHAPITRE VI

### CONTROLE EXERCE PAR LES TISSUS DU MOIGNON D'AMPUTATION DANS LA REGULATION PROXIMO-DISTALE DE LA REGENERATION DU MEMBRE

L'amputation d'un membre, à quelque niveau que ce soit, est suivie de la formation d'un régénérat correspondant de façon rigoureuse à la partie amputée. Ceci implique que le mécanisme de régénération tient compte de la qualité proximo-distale du moignon. Nous avons cherché à savoir si la peau ou les tissus axiaux contrôlaient de façon préférentielle l'organisation proximo-distale du régénérat. Dans ce but nous avons réalisé des greffes de manchons de peau sur des tissus axiaux de niveaux différents de membres non irradiés ou irradiés et en étudiant le degré de développement des formations surnuméraires résultant de l'association de peau et de tissus axiaux de niveaux différents et de faces opposées.

#### A - INFLUENCES RELATIVES DE LA PEAU ET DES TISSUS AXIAUX DANS L'ORGANISATION PROXIMO-DISTALE DU MEMBRE EN RÉGÉNÉRATION

La recherche de cette influence s'appuie sur les résultats des expériences suivantes dans lesquelles la peau du moignon d'amputation est remplacée par celle d'un niveau proximo-distal différent.

I - GREFFE DE PEAU NON IRRADIEE SUR UN MOIGNON DE MEMBRE NON IRRADIE  
(SERIES 76 et 77)

a) Expériences (Fig. 65)

Dans la série 76 on greffe un manchon de peau de bras sur l'avant-bras amputé, tandis que dans la série 77 un manchon de peau d'avant-bras est greffé sur le bras amputé. L'orientation des axes transverses du greffon correspond à celle du porte-greffe. A chacune de ces deux séries est associée une série témoin où le membre est simplement amputé, soit au milieu de l'avant-bras (témoin de la série 76), soit au milieu du bras (témoin de la série 77).

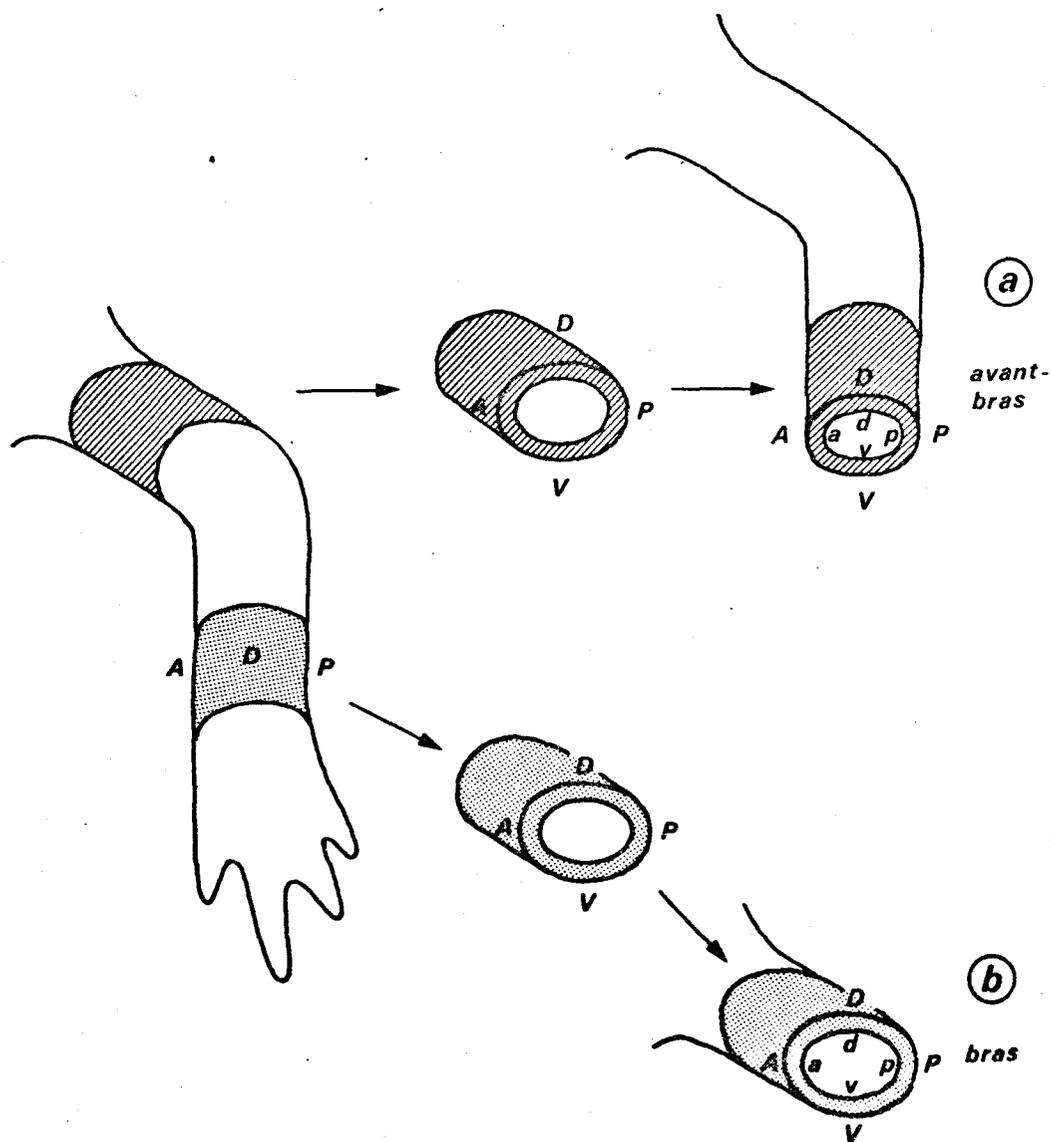


Fig. 65 - Procédure expérimentale de la série 76 (a) et de la série 77 (b).

Tableau 30 - Influence du niveau proximo-distal de la peau sur la régénération du membre non irradié.

Séries	Opérations	Nombre opérations	Nombre de cas avec carpiens surnum.	Moyennes des rapports humérus/cubitus		
				Nombre de mesures *	Valeur de la moyenne	Différence des moyennes Ecart standard
76	Peau de bras sur avant-bras	25	7	11	$m_1 = 1,58$	$m_1 - m_2 = 0,27$ Ecart standard = 0,09 $0,27 > 2,6 \cdot 0,09$
témoins 76	Amputation avant-bras			28	$m_2 = 1,85$	
77	Peau d'avant-bras sur bras	25		21	$m_3 = 2,28$	$m_3 - m_4 = 0,29$ Ecart standard = 0,052 $0,29 > 2,6 \cdot 0,052$
témoins 77	Amputation bras			24	$m_4 = 1,99$	

\*Seuls les squelettes dont l'humérus a été totalement préservé ont pu faire l'objet de mesures. De plus dans la série 76, les échantillons montrant des os surnuméraires n'ont pas été considérés dans l'établissement des moyennes.

b) Résultats (Tableau 30)

Tous les membres régénérés ont une apparence normale. L'examen des squelettes révèle qu'aucun os n'est absent. Par contre un os est apparu en surnombre dans 7 cas sur 25 dans la série 76 (Fig. 66)

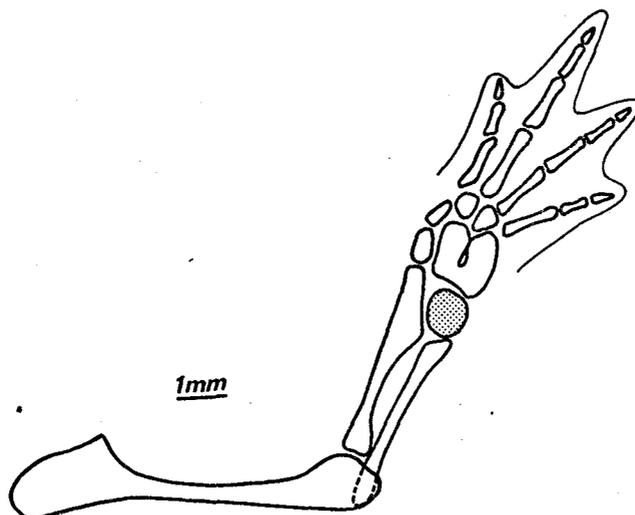


Fig. 66 - Greffe de peau de bras sur un avant-bras non irradié (série 76). Squelette du membre dont l'extrémité régénérée montre une pièce squelettique excédentaire (en grisé).

Nous avons établi les rapports des longueurs de l'humérus à celles du cubitus (H/C) pour chaque membre des séries 76 et 77 et de leurs séries témoins. Les valeurs obtenues dans les séries 76 et 77 ont été respectivement comparées à celles des séries témoins correspondantes. Les moyennes de ces rapports figurent sur le tableau 30. Les différences entre les moyennes de chaque série et des séries témoins correspondantes ( $m_1 - m_2$ ) et ( $m_3 - m_4$ ) sont significatives au seuil de probabilité de 1 %. Autrement dit, un manchon de peau pris sur l'avant-bras et greffé sur le bras tend à raccourcir le régénérat par rapport au régénérat témoin, tandis qu'un manchon de peau de bras, greffé sur l'avant-bras, tend à produire l'effet inverse.

c) Discussion

La différence de niveau proximo-distal entre la peau greffée et les tissus internes se traduit rarement par le développement d'altérations

structurales des régénérats. On n'observe pas de déficiences et les excédents correspondent au plus à un os supplémentaire. Toutefois ces influences affectent les dimensions des os longs des régénérats. Il existe donc une action conjointe mais inégale de la peau et des tissus axiaux dans le contrôle du développement proximo-distal. Différents auteurs ont réalisé des expériences analogues. WORONTSOVA (1937) citée par GOSS (1961) greffe du muscle de main ou d'avant-bras sur le moignon d'un bras et observe une régénération en relation avec le niveau d'origine du muscle. LIOSNER (1939) implante des os de l'épaule dans la jambe et remarque le développement de segments supplémentaires. JUGE (1940) remplace l'humérus par des os du carpe. Il constate, dans un certain nombre de cas, la régénération de membres raccourcis. En regroupant les différents résultats on peut admettre que chaque tissu du moignon de membre prend part au contrôle du développement proximo-distal du régénérat.

2 - GREFFE DE PEAU NON IRRADIEE SUR LE MOIGNON D'UN MEMBRE IRRADIE  
(SERIES 78 ET 79)

a) Expériences

Dans la série 78 un manchon de peau de bras gauche non irradié est greffé sur les tissus axiaux d'un moignon d'avant-bras droit irradié, alors que dans la série 79, la peau est prélevée sur l'avant-bras gauche et greffée sur les tissus axiaux du bras droit irradié. Dans ces deux séries, on inverse l'orientation proximo-distale du greffon afin qu'il y ait concordance des orientations *d-v* et *a-p* des greffons et porte-greffe. Finalement, les séries 78 et 79 ne diffèrent des deux séries précédentes que par l'irradiation du membre porte-greffe.

b) Résultats

Dans la série 78, les membres formés ont une apparence normale (Pl. VIII, j). L'observation de leur squelette montre que les parties régénérées se composent d'un zeugopode et d'un autopode. Parfois même de l'humérus semble s'interposer entre le zeugopode du membre irradié et le zeugopode régénéré (Fig. 67, a). Dans 22 cas sur 25 les os du zeugopode régénéré sont soudés entre eux.

Dans la série 79, 17 des 18 membres opérés régénèrent une extrémité distale correspondant à une main (Pl. VIII, k). L'examen des squelettes confirme ce résultat (Fig. 67, b).

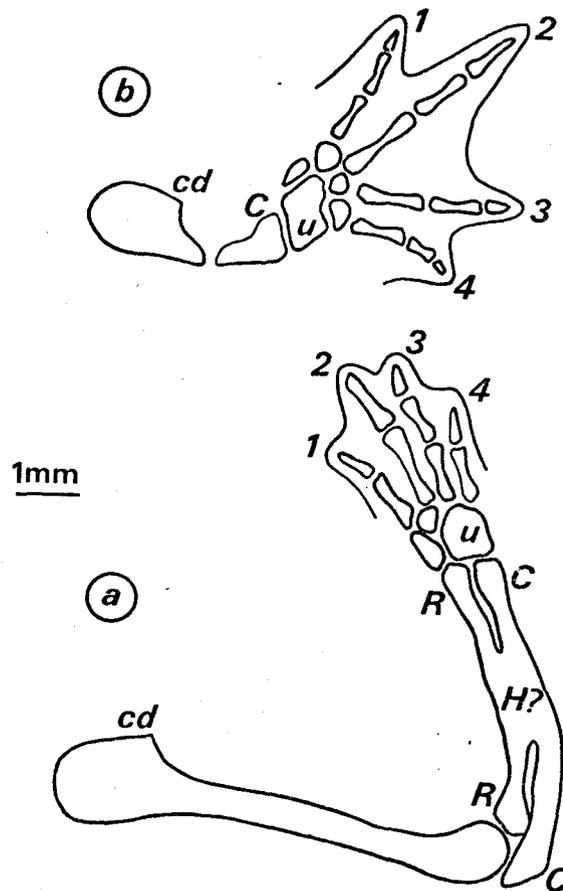


Fig. 67 - Régénération des membres droits irradiés des séries 78 et 79.

- a - Le manchon de peau de bras greffé sur l'avant-bras irradié induit le développement de l'autopode, du zeugopode et peut-être aussi du stylopode (série 78).
- b - Le manchon de peau d'avant-bras greffé sur le bras irradié n'a permis que la régénération d'une main (série 79).

c) Discussion

La peau non irradiée a permis la genèse d'une néoformation distale dont elle a contrôlé le développement. Aucun élément plus proximal que le niveau d'origine de la peau greffée n'est apparu. Nos résultats confirment ceux obtenus par UMANSKI (1939) qui, à partir de greffe de peau de cuisse ou de fémur sur la jambe d'un membre irradié, observe la formation de toutes les parties distales par rapport au milieu de la cuisse. Il conclut à l'absence d'influence régulatrice des tissus irradiés. Nous partageons cette opinion.

B - RÉGÉNÉRATION DE MEMBRES SURNUMÉRAIRES PAR CONTACT ENTRE LES TISSUS DE FACES OPPOSÉES APPARTENANT À DES NIVEAUX PROXIMO-DISTAUX DIFFÉRENTS

Le contact entre les tissus de faces opposées d'un même niveau proximo-distal, réalisé sur un moignon d'amputation est à l'origine du développement de membres surnuméraires. Quand ces tissus sont prélevés à des niveaux proximo-distaux différents, quels sont ceux qui règlent le développement proximo-distal des membres surnuméraires ?

Séries 80 à 82

1 - EXPERIENCES (Fig. 68)

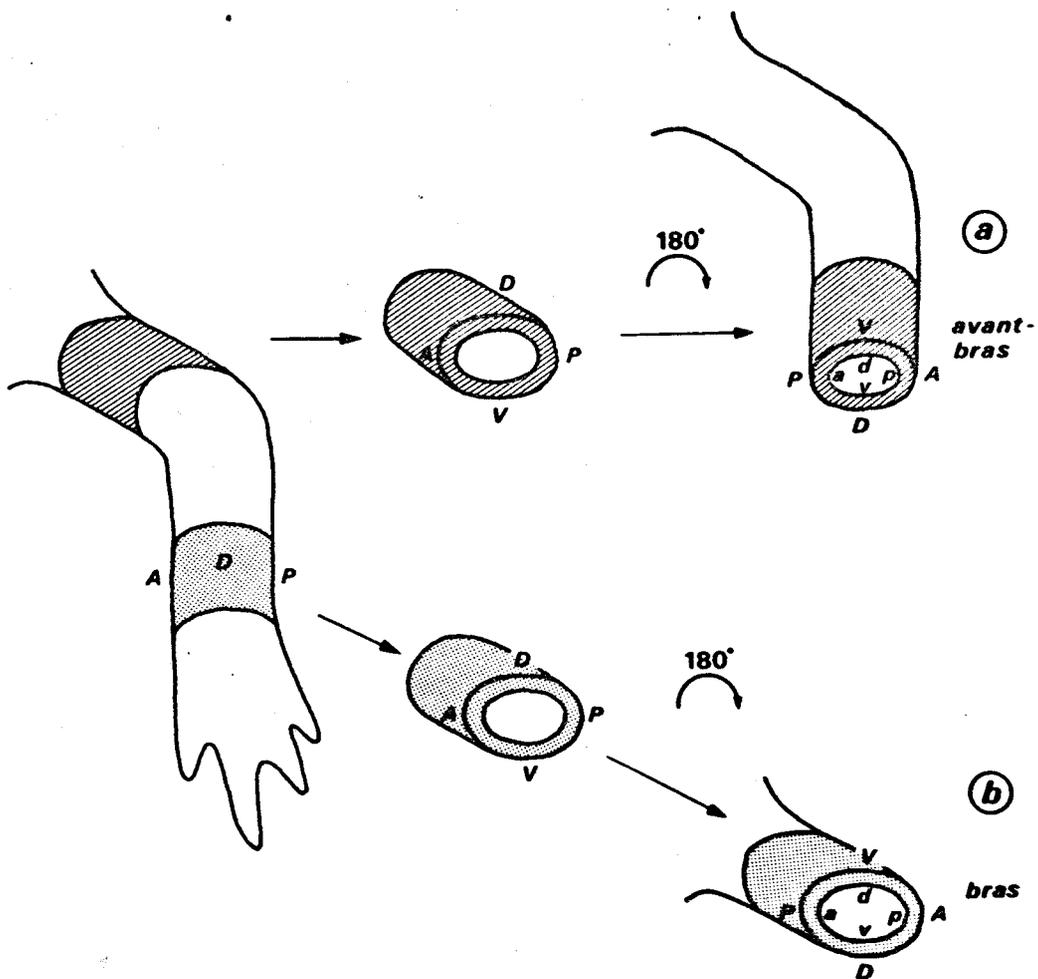


Fig. 68 - Procédure expérimentale des séries 80 (a) et 81 (b).

Dans les séries 80 et 81 on réalise des transplantations homopleurales de manchons de peau, accompagnées d'une rotation de 180 degrés, permettant d'inverser les axes transverses des greffons par rapport à ceux des membres receveurs. La peau de bras est greffée sur l'avant-bras dans la série 80 et de la peau d'avant-bras sur le bras dans la série 81. Dans la série 82 du muscle dorsal de bras est greffé sous la peau ventrale de l'avant-bras amputé à travers le greffon.

## 2 - RESULTATS (Tableau 31)

### a) Membres simples

Tous les membres simples correspondent à des membres normaux dont les orientations *d-v* et *a-p* sont conformes à celles du membre portegreffe.

### b) Membres surnuméraires

#### Fréquence

Dans ces trois séries, le pourcentage de membres à formations surnuméraires est du même ordre de grandeur que celui des séries dans lesquelles ces contacts se faisaient entre les tissus d'un même niveau. En effet, il y a 76 % de membres à formations surnuméraires dans la série 80 et 53 % dans la série 81, contre 71 % dans l'ensemble des séries 25 et 26. De même on compte 41 % de membres à formations surnuméraires dans la série 82 contre 59 % dans la série 10.

#### Localisation (Fig. 69).

Dans les séries 80 et 81, les formations surnuméraires se développent de façon préférentielle sur la face antérieure du membre axial et de façon exceptionnelle sur la face dorsale, ce qui correspond aux résultats des séries 25 et 26. Dans la série 82 la localisation des formations surnuméraires est surtout ventrale.

#### Degré de développement

Le degré de développement des formations surnuméraires est faible. Elles comportent des doigts ou des mains ou pour deux cas (série 81) trois os zeugopodiaux ont été observés (Fig. 69, b, c).



Tableau 31 - Régénération de membres sur le moignon desquels sont réalisés des contacts entre tissus de faces opposées et de niveaux proximo-distaux différents

Séries	Nb de cas	Régénération										Squelette de zeugopode			Position des formations surnuméraires			
		Membre simple	Membres à formations surnuméraires								Total							2 os
			Mains à plus de 4 doigts				2 mains	3 mains										
			5 doigts	6 doigts	7 doigts	8 doigts												
80	34	8	4	7	4	4	4	5	2	26 (76 %)	34	13	3	3	4	6		
81	34	16	10	5	1	2		2		18 (53 %)	32	8	3	1	4	2		
82	29	17	6	4	2					12 (41 %)	non étudié			2	9	1		

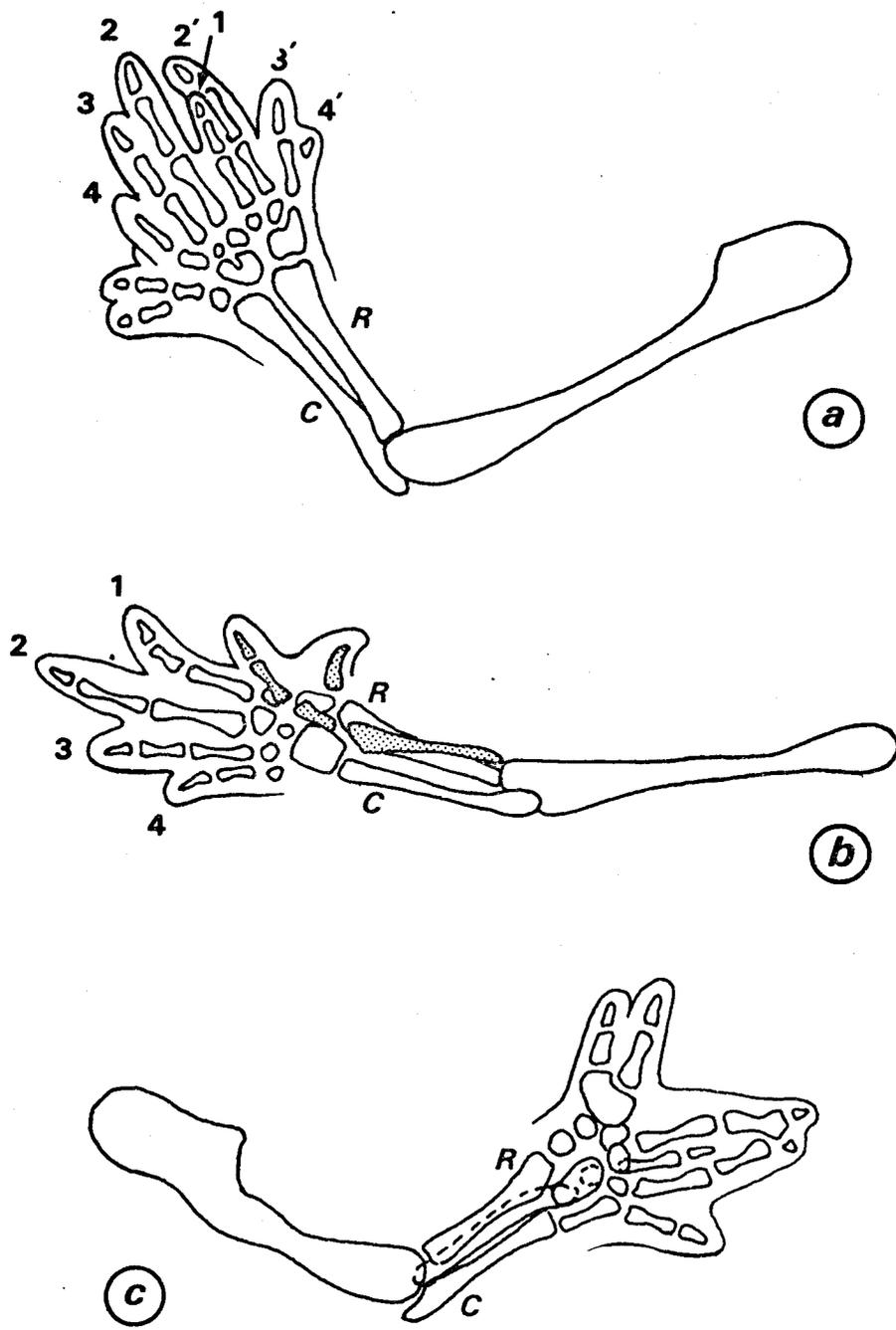


Fig. 69 - Membres à formations surnuméraires régénérés à partir de moignons sur lesquels ont été greffés des tissus d'un niveau proximo-distal différent de celui du moignon et dont les axes transverses sont en opposition d'orientation avec ceux du moignon.

a - Squelette de membre gauche de la série 80, en vue dorsale. Deux à trois doigts surnuméraires se sont développés sur les bords *a* et *p* du régénérat axial.

b et c - Squelettes de membres droits de la série 81, le premier en vue ventrale et le second en vue dorsale. Chacun d'eux présente trois os zeugopodiaux.

### 3 - DISCUSSION

Un élément intéressant à considérer est le degré de développement des formations surnuméraires. L'organisation proximo-distale de ces formations est-elle sous contrôle de la peau ou des tissus internes, des tissus distaux ou des tissus proximaux ? Dans les séries 80 et 82 les formations surnuméraires correspondent à des autopodes. On pourrait conclure que les tissus les plus distaux, qu'ils soient cutanés ou musculaires, contrôlent l'organisation proximo-distale des formations surnuméraires. Mais cette conclusion ne s'applique pas aux deux cas de membres à formations surnuméraires de la série 81, qui présentent trois os zeugopodiaux.

Il semble donc que l'organisation proximo-distale des formations surnuméraires se fasse principalement sous l'influence des tissus les plus distaux.

### CONCLUSION

Les cellules des tissus périphériques ou axiaux du membre sont affectées de valeurs de position qui les différencient des cellules plus distales ou plus proximales. L'association de tissus non irradiés de niveaux proximo-distaux différents crée un conflit de tendances. Les tissus axiaux imposent davantage leur niveau proximo-distal et contrôlent plus que ne le fait la peau le degré de développement du régénérat. Toutefois la peau non irradiée, greffée sur des tissus irradiés, détermine seule le degré de développement de la néoformation qu'elle engendre. Dans la genèse des formations surnuméraires nous ne connaissons pas la participation des tissus de qualités distale ou proximale mis en contact les uns des autres mais leur degré de développement souvent réduit témoigne de la participation majeure des tissus distaux à leur formation. Les éléments plus proximaux des formations surnuméraires ne se formeraient pas facilement à cause de la difficulté, voire de l'éventuelle impossibilité des cellules distales des tissus de faces opposées mis en contact, de devenir plus proximales.

### CONCLUSION DE LA TROISIÈME PARTIE

Le contrôle du développement proximo-distal du membre en régénération est exercé par la peau et par les tissus axiaux. Toute cellule du membre semble donc affectée d'une valeur de position au sein des gradients transverses et du gradient proximo-distal. Un blastème de régénération, quelle que soit sa situation sur le membre se développerait de façon autonome.

Le contact de tissus entre lesquels il existe à la fois une opposition des valeurs de position d'un axe transverse et une discontinuité des valeurs de position de l'axe proximo-distal permet aussi l'apparition de formations surnuméraires. Le développement proximo-distal de ces formations semble assuré par les tissus du membre tant superficiels que profonds. La question de l'éventuelle participation de cellules à l'édification de tissus plus proximaux que ceux dont elles dérivent n'est pas résolue.

QUATRIEME PARTIE

ROLES RESPECTIFS DES NERFS ET  
DES CONTACTS TISSULAIRES DANS  
LA GENESE DES MEMBRES SURNUMERAIRES

Le rôle du système nerveux dans la régénération du membre d'Amphibien a fait l'objet de nombreux travaux de SINGER et de son école. Les principales conclusions (SINGER, 1974) sont les suivantes : (1) Un nombre minimal de fibres nerveuses est nécessaire à la régénération. (2) Celle-ci obéit à la loi du tout ou rien. (3) Le nerf joue un rôle trophique. (4) L'agent neurotrophe ne détermine ni la nature, ni la morphogenèse, ni l'histogenèse des régénérats.

Dans les chapitres précédents nous avons constaté que le pourcentage des formations surnuméraires était variable selon la localisation des contacts établis entre les tissus de faces opposées. Rappelons par exemple, qu'un contact entre la peau ventrale et le muscle dorsal de membre est à l'origine de 3 % de formations surnuméraires quand le muscle ventral est glissé sous la peau dorsale du moignon d'amputation (série 10), mais de 27 % de formations surnuméraires quand un secteur de peau dorsale est greffé sur le muscle ventral (série 5). Nous nous sommes demandés s'il pouvait exister une relation entre la fréquence d'obtention des formations surnuméraires selon la localisation des contacts entre tissus de faces opposées et une inégale répartition des nerfs à la surface du moignon d'amputation. Nous tenterons de répondre à cette question dans notre prochain chapitre.

Corrélativement, si la stimulation nerveuse semble être un facteur indispensable au développement de membres surnuméraires, on peut considérer la possibilité d'induction de membres surnuméraires à l'extrémité d'un nerf dévié, comme l'a montré LOCATELLI dès 1925, et rechercher si les conditions de morphogenèse de ces néoformations sont les mêmes que celles impliquées dans le développement des formations surnuméraires préalablement étudiées.

## CHAPITRE VII

### ROLE DES NERFS DANS LA FREQUENCE D'OBTENTION DES FORMATIONS SURNUMERAIRES

#### A - RÉPARTITION DES PRINCIPAUX NERFS DU MEMBRE DE PLEURODÈLE (Fig. 70)

Nous avons suivi par dissection le trajet des deux principaux nerfs du bras, le nerf brachial et le nerf extenseur. Le nerf brachial dérive du quatrième nerf spinal. Il est dorsal au niveau de l'épaule mais se dirige brusquement vers la face ventrale en contournant l'humérus par son bord postérieur. Arrivé à la face ventrale, il se divise en deux branches qui se côtoient jusqu'au coude. Le nerf extenseur est le prolongement du troisième nerf spinal. Il est lui aussi dorsal au niveau de l'épaule, puis s'enfonce dans le centre du membre à travers le muscle *anconeus* et se divise en deux branches inégales. La branche principale demeure dorsale par rapport à l'humérus. A mi-bras, le nerf extenseur devient antérieur par rapport à l'humérus. Dans l'avant-bras, les nerfs ont des positions antérieure ou postérieure ou se situent entre le radius et le cubitus.

En résumé, les nerfs du bras et de l'avant-bras n'ont une position dorsale qu'à la racine du membre. Dans la moitié proximale du bras, les principaux nerfs deviennent postérieurs et ventraux. Ils occupent une situation essentiellement ventrale et antérieure dans la moitié distale du bras. Enfin, dans l'avant-bras, les nerfs sont en position antérieure, postérieure ou ventro-postérieure.

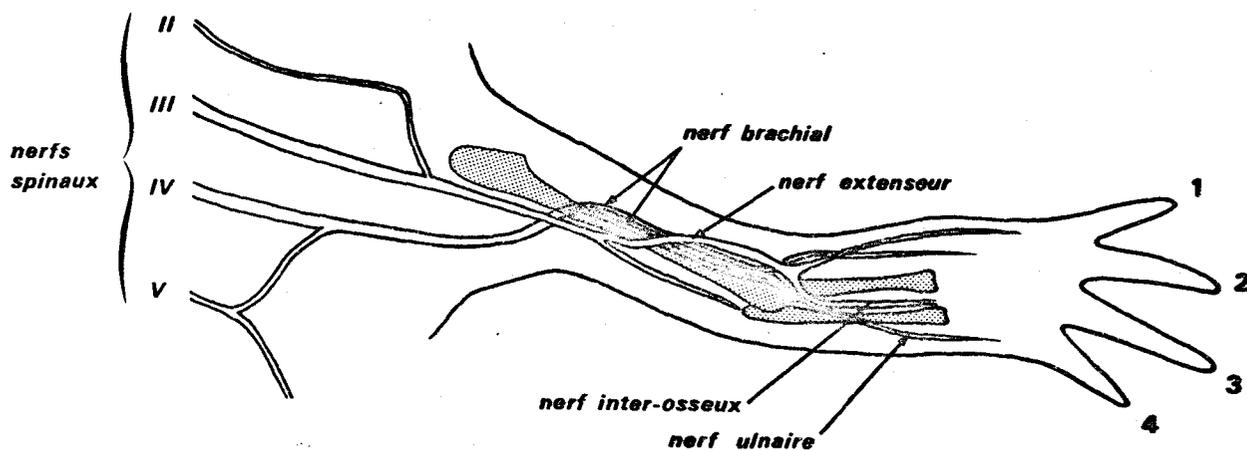


Fig. 70 - Les principaux nerfs du membre antérieur de Pleurodèle.

Nous allons présenter quelques séries d'expériences afin de savoir si l'absence de gros nerfs dans la moitié dorsale du membre est la cause de la faible fréquence d'apparition des formations surnuméraires sur la face dorsale du membre régénéré.

## B - FORMATIONS SURNUMÉRAIRES DORSALES APRÈS AUGMENTATION DE L'INNERVATION

### 1 - OPERATIONS

#### a) Grefe de peau ventrale sur la face dorsale de la racine du bras

Série 83 - Un secteur de peau ventrale de bras proximal est greffé à la place d'un secteur de peau dorsale du même niveau. L'amputation est réalisée le lendemain à travers le greffon.

#### b) Grefe de peau ventrale sur la face dorsale du bras et enrichissement de cette zone en nerfs

Série 84 - Une incision longitudinale dans la peau ventrale du membre permet d'atteindre le nerf brachial, qu'on sectionne au niveau du coude et dont la partie distale est soigneusement détachée des tissus du bras. La musculature dorsale est percée afin de permettre le passage des deux branches du nerf brachial qui émergent à la face dorsale à égale distance de l'épaule

et du coude. L'extrémité du nerf est rabattue distalement contre les tissus musculaires puis recouverte d'un secteur de peau ventrale qui remplace à ce niveau la peau dorsale. L'amputation est faite le lendemain à travers la région greffée (Fig. 71, b).

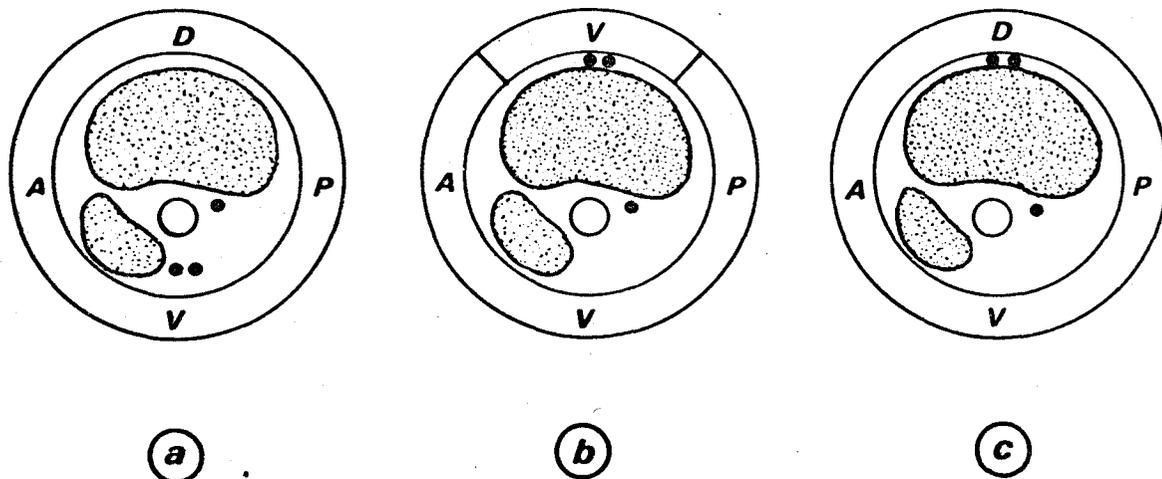


Fig. 71 - Schémas des coupes transversales de bras droit distal correspondant aux membres témoins (a), aux membres opérés de la série 84 (b) et aux membres opérés-témoins de la série 85 (c).

Série 85 - Cette série est une série-témoin de la précédente. Le nerf brachial subit la même déviation que dans la série 84, mais son extrémité se situe entre la musculature dorsale et la peau dorsale en place. L'amputation est faite le lendemain à travers l'extrémité déviée du nerf (Fig. 71, c).

## 2 - RESULTATS (Tableau 32)

### a) Série 83

Les régénérats présentent un développement normal du stylo-pode et du zeugopode, mais une tendance à la réduction du nombre de doigts caractérise cette série (Fig. 72, a). Les membres à formations surnuméraires semblent aussi affectés par cette réduction (Fig. 72, b).

Le pourcentage des membres à formations surnuméraires est de 19 % (7 cas sur 37).

Par rapport au membre axial, les formations surnuméraires ont une position dorsale dans 5 cas et une position antérieure dans 2 cas.

Le critère nombre de doigts semble indiquer un faible degré de développement des formations surnuméraires. Cependant, quand on considère le nombre d'os du zeugopode des régénérats, on constate que 4 des

7 membres à formations surnuméraires présentent une duplication au niveau de l'avant-bras.

Tableau 32 - Rôle des nerfs dans la fréquence d'obtention des membres surnuméraires. (séries 83 à 85).

Séries	Nb de cas	Membres simples	Membres à form. surnum.	Nombre de doigts des régénérats								Nombre d'os du zeugopode			
				Membres simples				Membres à formations surnuméraires				2 os	3 os	4 os	
				1	2	3	4	4	5	6	7				8
83	37	30	7 (19 %)	3	9	4	13	1	4	1	1		3	3	1
84	35	26	9 (26 %)				26		5	2	1	1	6	3	
85	56	53				3	53								

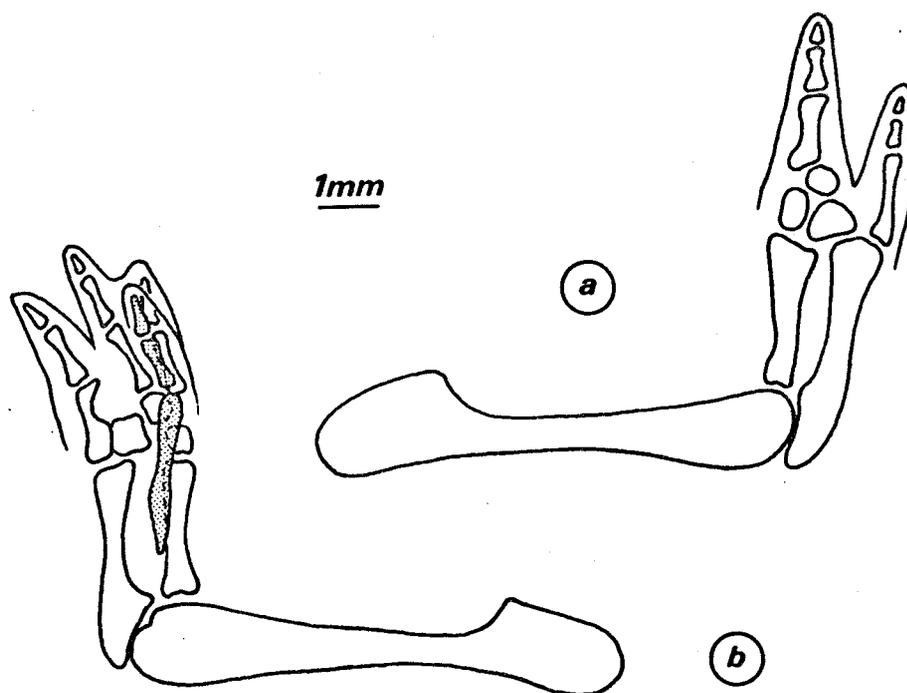


Fig. 72 - Squelettes de membres régénérés de la série 83.

a - Membre droit hypomorphe.

b - Membre gauche à formation surnuméraire dorsale (en grisé).

b) Séries 84 et 85

Dans la série 84, les régénérats correspondent soit à des membres simples et normalement développés, soit à des membres à formations surnuméraires.

Le pourcentage de membres à formations surnuméraires est de 26 % (9 cas sur 35).

Les formations surnuméraires sont localisées sur la face dorsale (Pl. IX, a).

Les structures surnuméraires correspondent principalement à la main sauf dans 3 membres sur 9 où un os zeugopodial surnuméraire s'est développé.

La série 85 ne montre que des membres régénérés simples.

3 - DISCUSSION

Les résultats de la série 85 démontrent que la déviation du nerf brachial sous la peau dorsale du bras n'altère pas la morphogénèse régénératrice du membre.

Avant de discuter de l'influence du nerf sur la fréquence d'obtention de formations surnuméraires, comparons les résultats des séries 83 et 84 à ceux des séries dans lesquelles des tissus de face ventrale ont été mis en contact avec les tissus dorsaux en place. Ce sont les séries 6 (greffe de secteur ventral de peau à la face dorsale), 10 (greffe de muscle ventral sous la peau dorsale) et 12 (greffe d'une bande de peau ventrale en manchon autour du bras). Les pourcentages de membres à formations surnuméraires dans chacune des séries 6, 10 et 12 sont respectivement de 6 %, 3 % et 7 %. Les pourcentages des séries 83 et 84 sont de 19 % et 26 %. Cette comparaison prouve l'importance de la stimulation nerveuse dans le développement des formations surnuméraires.

En effet, quand on greffe de la peau de qualité *d* ou *a*, le pourcentage de membres à formations surnuméraires est compris entre 18 % et 33 %. Quand la peau greffée est de qualité *p* ces pourcentages atteignent les valeurs de 65 % (série 8 réalisée sur l'avant-bras) et de 49 % (série 14 réalisée sur le bras distal).

CONCLUSION

Trois conditions semblent être requises pour qu'un membre surnuméraire puisse se former. Un contact entre tissus de faces opposées constitue une condition à l'établissement d'un centre morphogénétique. Ce dernier se développe en un membre bien constitué quand les cellules des tissus mis en contact participent de façon équivalente à la constitution du blastème. Enfin, une stimulation nerveuse minimale semble indispensable au développement des formations surnuméraires.

## CHAPITRE VIII

### DEVELOPPEMENT DE MEMBRES SURNUMERAIRES

### INDUITS PAR DEVIATION DU NERF BRACHIAL

GUYENOT et son école (GUYENOT et SCHOTTE, 1926 ; GUYENOT *et al.*, 1948 ; DROIN, 1959 ; RAHMANI, 1960) ont démontré que le nerf n'a pas de rôle morphogène spécifique mais uniquement une influence stimulatrice ; la spécificité des néoformations développées à l'extrémité d'un nerf dévié ne dépend que de la nature des territoires où cette opération a été pratiquée. Dans les chapitres précédents nous avons établi que la mise en place d'un centre de morphogenèse surnuméraire pouvait se faire au niveau d'un contact de tissus de qualités opposées mais non au sein d'un tissu d'une qualité unique. La présente étude a été réalisée afin de rechercher si le degré de développement des membres surnuméraires apparaissant au point d'émergence des nerfs déviés obéit à cette même exigence. Cette étude a fait l'objet d'une publication (LHEUREUX, 1977).

#### A - TECHNIQUES OPÉRATOIRES

Les expériences consistent à dévier l'ensemble des deux branches parallèles du nerf brachial et à faire émerger l'extrémité sectionnée à la surface du membre ou du territoire situé au voisinage de la racine du membre, afin d'essayer de déclencher la genèse de membres surnuméraires au point d'émergence du nerf dévié. Le nerf brachial est mis à nu à la face ventrale du membre, après avoir, le cas échéant, préservé un manchon de peau. Le vaisseau sanguin qui accompagne le nerf brachial est dévié avec lui. Les différences de procédure in-

roduites dans les séries d'expériences se rapportent, d'une part à la localisation du point d'émergence du nerf et, d'autre part, à la nature des tissus situés au voisinage immédiat de ce point d'émergence.

## B - EXPÉRIENCES

### a) Séries d'expériences 86 à 90 (Fig. 73)

Dans ces cinq séries d'expériences, le nerf est simplement dévié à la surface du membre ou de l'épaule. Aucun apport de tissu de face opposée n'est effectué.

Dans la série 86 une incision est faite dans la peau autour du bras à égale distance de l'épaule et du coude. La peau située distalement à cette incision est détachée et rabattue vers le coude. Le nerf brachial, mis à nu, est sectionné au niveau du coude et soigneusement détaché des tissus conjonctifs qui l'enveloppent jusqu'au niveau de l'incision cutanée. La peau est alors remise en place. Le nerf brachial est recoupé de sorte que la longueur du nerf émergeant à la face ventrale du bras corresponde environ au cinquième du diamètre du membre. Une autre procédure expérimentale de déviation nerveuse à la face ventrale a aussi été réalisée. Un petit cercle de peau est enlevé à la face ventrale du bras. La peau en place située distalement à ce cercle est fendue jusqu'au coude afin de dégager le nerf brachial qui est alors sectionné au niveau du coude. La partie proximale du nerf est déviée, et traverse la musculature ventrale afin que l'extrémité sectionnée du nerf émerge au centre du cercle dénudé. Les résultats, consécutifs à ces deux procédures, ayant été équivalents, ont été regroupés dans la même série.

Dans la série 87, le nerf brachial est toujours dégagé à partir de la face ventrale du bras et coupé au niveau du coude. Le nerf dévié traverse la musculature du bras et émerge à la face dorsale du bras au centre d'une petite zone circulaire où l'on a préalablement pratiqué l'ablation de la peau.

La série 88 correspond à la série 87, à la différence que le diamètre de la zone circulaire de tissus sous-cutanés mis à nu atteint sensiblement le diamètre du membre, l'ablation d'une grande zone de peau devant éviter un recouvrement trop précoce du nerf dévié par le derme.

Dans la série 89, le nerf brachial mis à nu est coupé au niveau du coude, dégagé des tissus sous-cutanés des trois quarts distaux du bras. Le nerf est glissé sous la peau et son extrémité émerge au centre

d'un cercle où l'on a pratiqué l'ablation de la peau et situé à égale distance de la racine du membre et de la ligne médiane ventrale du corps.

Le nerf brachial, dans la série 90, est préparé de façon semblable, traverse les tissus de l'épaule et émerge au centre d'un cercle sans peau, situé à égale distance de la racine du membre et de la crête dorsale.

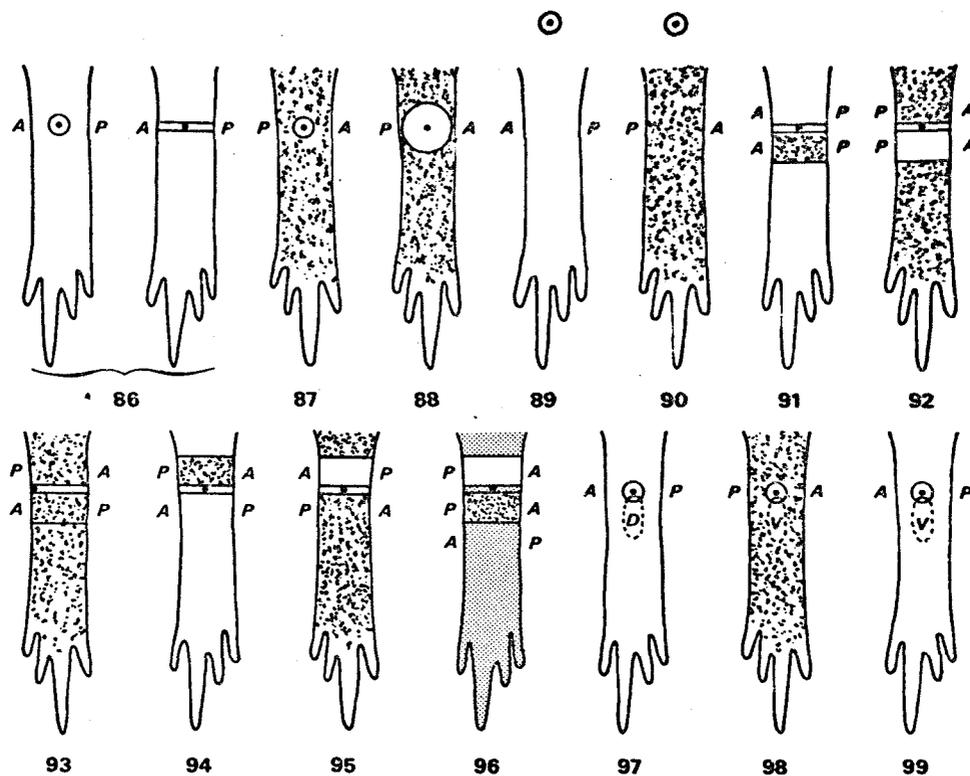


Fig. 73 - Représentation schématique des opérations réalisées dans l'ensemble des séries expérimentales. Les nombres 86 à 99 correspondent aux numéros des séries. La face dorsale est pigmentée, la face ventrale est blanche. Le membre grisé a été irradié. Le point noir correspond au point d'émergence du nerf brachial dévié. Il est placé, soit au centre d'un cercle limitant la zone où la peau est ôtée, soit entre deux manchons de peau. Le fragment musculaire greffé sous la peau dans les séries 97, 98 et 99 est limité par un trait continu. A, antérieur ; D, dorsal ; P, postérieur ; V, ventral.

b) Séries d'expériences 91 à 96 (Fig. 73)

Dans chacune de ces séries, le point d'émergence du nerf dévié se situe entre deux zones de peau de faces opposées, dorsale et ventrale ou antérieure et postérieure. A l'exception de la série 96, l'une des zones correspond à de la peau en place et l'autre à de la peau greffée. Cette dernière se présente sous la forme d'un manchon qui, lorsque son origine est contralatérale, est enfilé le long du membre après amputation des doigts 1 et 4 afin de faciliter l'opération.

Dans la série 91, on enlève la peau de la moitié distale du bras. Le nerf brachial, sectionné au niveau du coude, est dégagé jusqu'à mi-bras. Un manchon de peau de bras contralatéral est alors transplanté sur la partie dénudée. L'axe antéro-postérieur du manchon correspond à celui du bras receveur. L'axe dorso-ventral est inversé par rapport à celui du bras receveur. Un contact entre la peau ventrale en place et la peau dorsale greffée, est ainsi réalisé. L'extrémité du nerf dévié est située au niveau de ce contact.

Dans la série 92, le manchon de peau greffée a même origine et même orientation que celui de la série 91. Le nerf brachial est dévié à la face dorsale du bras entre la peau dorsale proximale en place et la peau ventrale du greffon.

Dans la série 93, le manchon de peau greffée est aussi contralatéral mais son axe dorso-ventral correspond à celui du membre receveur, tandis que son axe antéro-postérieur est inversé par rapport à celui du membre receveur. Le nerf est dévié à la face postérieure du bras, entre la peau postérieure proximale en place et la peau antérieure du greffon.

Dans les séries 94 et 95, le manchon de peau greffée est homolatéral et subit une rotation sur place de 180 degrés. Tous les axes transverses du manchon, dont les axes antéro-postérieur et dorso-ventral, sont donc inversés par rapport à ceux du membre receveur. Les déviations du nerf brachial se font, dans la série 94, sur la face ventrale du bras entre la peau dorsale proximale greffée et la peau ventrale en place. Dans la série 95, le nerf émerge à la face dorsale du membre entre la peau ventrale proximale greffée et la peau dorsale en place.

La série 96 est réalisée avec des membres droits irradiés aux rayons X à la dose de 2 000 r, et sur lesquels on a greffé deux manchons de peau saine provenant du bras gauche non irradié. Au point d'émergence du nerf irradié dévié, il y a, d'une part, contact des faces dorsale et ventrale et d'autre part inversion des axes antéro-postérieurs des manchons de peau non irradiée par rapport à l'axe antéro-postérieur du membre receveur. Il faut pour cela inverser également l'axe proximo-distal du manchon le plus distal.

c) Séries d'expériences 97 à 99 (Fig. 73)

Dans la série 97, le nerf brachial est dévié à la face ventrale du bras au centre d'un cercle dont on a préalablement fait l'ablation de la peau. Un fragment de muscle dorsal du bras contralatéral est

glissé sous la peau ventrale, de sorte qu'une partie de ce fragment apparaisse au niveau du cercle dépourvu de peau, et en contact avec le nerf dévié.

Dans la série 98, la procédure est équivalente mais la déviation nerveuse est faite à la face dorsale du bras et le fragment de muscle provient de la face ventrale du bras contralatéral.

La série 99 est une série témoin : la déviation est ventrale et le muscle greffé est également ventral.

## C - RÉSULTATS

### 1 - DÉGRE DE DÉVELOPPEMENT (Tableau 33)

L'examen général des résultats permet d'observer des variations du degré de développement des membres surnuméraires induits aux points d'émergence des nerfs déviés. Le degré de développement est apprécié par examen morphologique mais surtout par étude des squelettes des membres. Le tableau 33 révèle que pour un nombre de cas important il y a absence totale de développement. Dans d'autres cas, une petite proéminence conique apparaît au bout de deux semaines mais régresse ensuite. L'épaississement de la peau en cette région efface alors la trace de cette petite proéminence. Dans tous les autres cas, les formations qui se développent subsistent pendant toute la durée de l'expérience. Lorsque le membre surnuméraire se développe normalement, il apparaît, deux semaines après l'opération, un bourgeon conique qui s'accroît et prend l'aspect d'une palette à la fin du premier mois. La croissance se poursuit et, à la fin du deuxième mois, les doigts de la main sont aisément discernés. Ce membre s'allonge encore et les doigts s'individualisent. Le développement est achevé à la fin du troisième mois.

#### a) Séries 86 à 90

Les résultats obtenus dans l'ensemble des séries 86 à 90 montrent qu'une simple déviation du nerf ne permet pas la genèse de membres bien développés. On observe des formations de taille réduite le plus souvent (Pl. IX, b), simples et digitiformes, parfois bifurquées à leur extrémité. Dans deux cas de la série 87, où le nerf dévié émerge à la face dorsale du bras, il se développe une prestation tridigitée (Pl. IX, c).

La coloration des squelettes permet souvent de constater, au niveau des protubérances coniques peu développées, l'absence de soutien cartilagineux. Quand les squelettes sont présents, la structure habituelle du membre antérieur

Tableau 33 - Résultats des expériences de déviation du nerf brachial à la surface du membre de *Pleurodeles waltlii*.

Séries	Nb de cas	Absence totale de développement	Développement temporaire d'une petite excroissance	Morphogénèses durables	Degré de développement des morphogénèses durables								
					Formation sans carpe ni zeugopode*		Membre à main et avant-bras développés						
					Conique ou digitiforme	Bifurquée	Trifurquée	2 doigts	3 doigts	4 doigts	plus de 4 doigts		
86	57	28	5	24	17	7							
87	89	30	43	16	12	2	2						
88	46	22	15	9	9								
89	60	36	16	8	8								
90	28	28											
91	83	57		26						2	24		
92	78	59		19	5	1				3	10		
93	41	22	6	13						8	5		
94	78	38		40	1					4	11	20	
95	50	22		28	3	1				4	5	8	
96	93	77		16	1	2				1	9		
97	70	22	16	32	7	9				3	6		
98	66	35		27	5	1				4	11		1
99	40	13	15	12	10	1					1		



ne peut être reconnue, le carpe étant absent et le zeugopode à deux os n'ayant jamais été identifié (Fig. 74, a). Par contre un squelette composé de trois doigts et d'une masse cartilagineuse allongée transversalement pouvant correspondre au carpe, a été observé dans deux cas (Fig. 74, b).

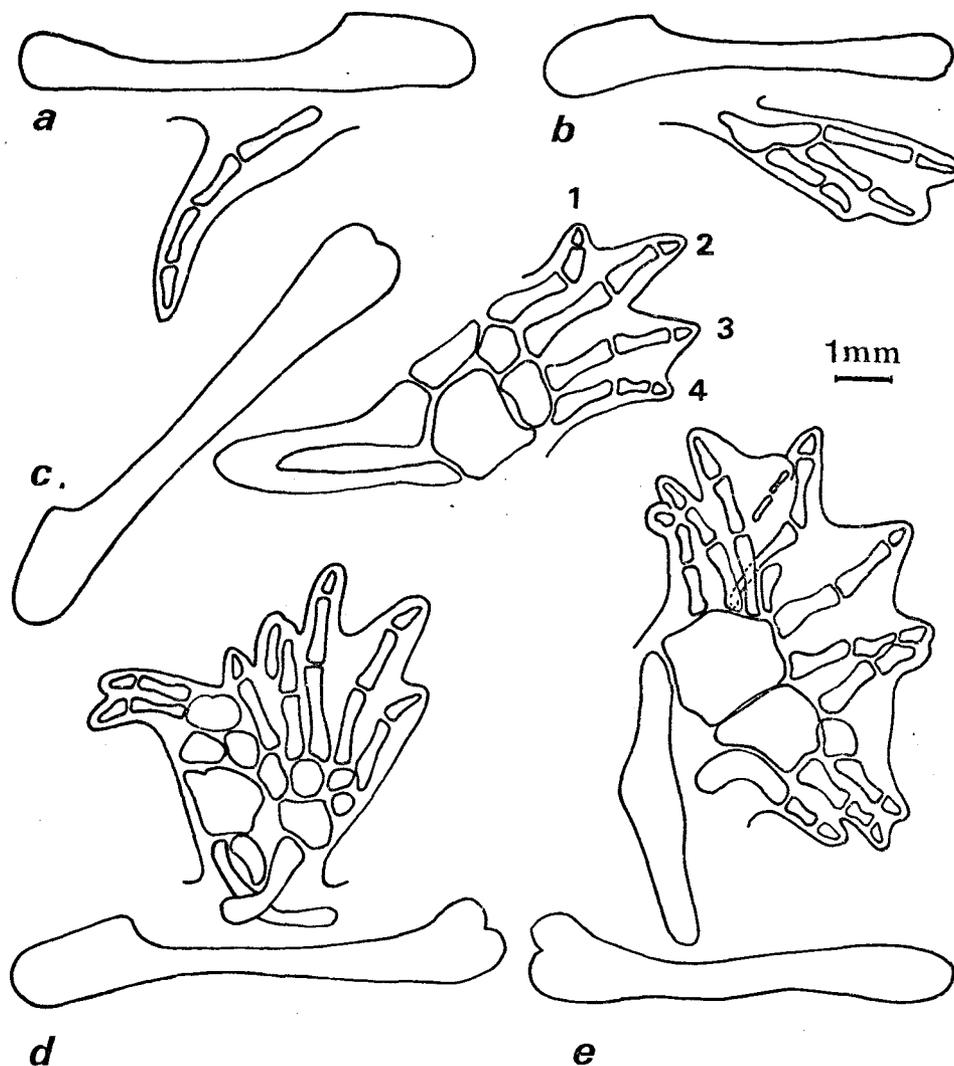


Fig. 74 - Squelettes de membres néoformés présentant des degrés variés de développement. Avec chacun d'eux l'humérus du membre opéré a été représenté.

- a - Formation digitée obtenue sur le bras gauche après simple déviation dorsale du nerf brachial (série 87).
- b - Cette formation développée sur le bras droit représente le développement maximum obtenu après déviation dorsale du nerf brachial (série 87).
- c - Membre simple développé sur le bras droit après déviation nerveuse entre peau postérieure en place et peau antérieure greffée (série 93).
- d et e - Membres multiples, résultats des expériences de la série 94 où, en plus du contact de tissus dorsal et ventral, on introduit une inversion des axes antéro-postérieurs, de la peau en place et de la peau greffée. d - Membre droit en vue dorsale ; e - membre droit en vue ventrale.

b) Séries 91 à 96

Parmi les 149 morphogénèses observées dans cet ensemble, 135 correspondent à des parties distales bien développées de membre antérieur. La main est bien formée, le zeugopode est présent mais souvent réduit à sa partie distale (Pl. IX, d). Les éléments du carpe sont parfois incomplètement individualisés. Des anomalies de structure sont observées surtout dans le squelette des membres à deux ou trois doigts. On observe en particulier trois cas d'absence de zeugopode, trois cas d'absence de radial et huit cas où les os du carpe sont soudés en une masse unique.

Des membres complexes caractérisent les séries expérimentales 94 et 95 dans lesquelles ils correspondent respectivement à 50 % et 28 % des morphogénèses obtenues. Ce sont parfois des mains élargies, parfois des mains doubles (Fig. 74, d). Dans quatre cas de la série 94, le zeugopode se compose de trois os. Un membre néoformé multiple à onze doigts a aussi été observé (Fig. 74, e). Souvent les éléments des squelettes ne peuvent être identifiés avec certitude (Pl. IX, e).

c) Séries 97 à 99

L'introduction, au voisinage du point d'émergence du nerf dévié, d'un fragment de muscle provenant de la face opposée du bras contralatéral (séries 97 et 98), conduit à l'obtention, à côté de membres normaux ou subnormaux (Pl. IX, f, g), de structures digitiformes peu développées. Dans un cas le membre obtenu présente six doigts (Pl. IX, h). Après analyse des squelettes, 62 % des morphogénèses obtenues dans les séries 97 et 98 sont conformes à des parties distales de membre bien développées.

A l'opposé de ces résultats, il ne se forme pas de membres bien développés (Pl. IX, i) quand du muscle ventral est introduit sous la peau ventrale au niveau du point d'émergence du nerf dévié (série 99).

2 - ORIENTATION DES MEMBRES NEOFORMES

L'orientation antéro-postérieure et dorso-ventrale des membres néoformés a été observée dans les séries d'expériences où les mains étaient bien constituées et sur lesquelles se distinguaient au moins trois doigts (Tableau 34).

L'orientation antéro-postérieure est principalement déterminée par examen des os, la position du cubital étant un repère précis.

L'orientation dorso-ventrale est déterminée après observation de la pigmentation du membre et de l'articulation des doigts.

Tableau 34 - Orientation des axes *a-p* et *d-v* des membres néoformés bien développés par rapport à celle des axes correspondants du membre axial.

Séries	axe <i>a-p</i>				axe <i>d-v</i>			
	conforme	inverse	Perpendiculaire; bord postérieur en position proximale	indét.	conforme	Perpendiculaire; bord dorsal en position proximale   distale	indét.	
91	19			6			16	9
92	10			3		7		6
93			6	7	4			9
94	7	5		27		25		14
95	4	3		13			12	8
96		12					12	8
97	8			5				13
98	8			9				17

a) Orientation antéro-postérieure

Lorsque le nerf est dévié entre deux régions antérieure et postérieure de peau (série 93), le plan antéro-postérieur du membre néoformé est perpendiculaire à celui du membre axial, le bord postérieur étant en position proximale et le bord antérieur en position distale (Pl. IX, j ; Fig. 74, c). Dans les séries 91, 92 et 96, l'extrémité du nerf dévié émerge entre deux zones de peau ventrale et dorsale. Les axes antéro-postérieurs de la peau en place ou de la peau des manchons greffés sont concordants. L'orientation de l'axe antéro-postérieur des néoformations obtenues dans ces trois séries est en accord avec celle de la peau en place ou de la peau transplantée ou encore de la musculature

non irradiée (Pl. IX, d, k, l, n). Par contre, dans les séries 94 et 95 où les axes transverses de la peau en place et de la peau du manchon greffé s'opposent deux à deux, l'axe antéro-postérieur des membres simples néoformés est parfois conforme à celui des membres axiaux (Pl. IX, m), parfois inverse.

Enfin, l'orientation antéro-postérieure des membres néoformés des séries 97 et 98 correspond à celle des membres axiaux.

#### b) Orientation dorso-ventrale

Dans les séries d'expériences où la déviation du nerf est réalisée entre deux zones de peau de qualités dorsale et ventrale, le membre néoformé est, au début de sa croissance, perpendiculaire au membre axial. Sa face dorsale est située du côté de la zone de peau de qualité dorsale et sa face ventrale est située du côté de la zone de peau de qualité ventrale (Pl. IX, k, n). Dans la série 93, l'orientation dorso-ventrale de la néoformation correspond à celle du membre axial (Pl. IX, j). Les membres obtenus dans les séries 97 et 98 ne présentent pas les critères qui permettent de distinguer sans équivoque la face palmaire de la face dorsale.

### D - DISCUSSION

Au point d'émergence des nerfs déviés peuvent apparaître ou non des néoformations surnuméraires. Nous envisagerons d'abord l'efficacité de l'innervation dans le déclenchement de morphogenèse puis le degré de développement des néoformations.

#### 1 - EFFICACITE DE L'INNERVATION DANS LE DECLENCHEMENT DE MORPHOGENESE

Les conditions d'apparition de tels membres surnuméraires sont semblables à celles de la régénération, à savoir l'existence d'une blessure, de nerfs en quantité suffisante et de tissus appartenant à un territoire de régénération.

La blessure est réalisée soit par incision de la peau entre les bords de laquelle on fait émerger l'extrémité sectionnée du nerf brachial, soit par mise à nu des tissus sous-cutanés par ablation d'une aire circulaire de peau. L'étendue de ces blessures est suffisante car elle permet dans certaines séries expérimentales le développement normal de membres.

Il faut remarquer que les résultats des séries 87 et 88 sont équivalents bien que l'aire d'épiderme cicatriciel ait été considérablement augmentée dans la série 88.

Dans nos expériences, le nombre de fibres du nerf brachial est suffisant pour permettre le déclenchement de morphogenèse dans environ 50 % des cas.

Pour les 50 % d'échecs quelques explications peuvent être invoquées : une lésion du nerf brachial au cours de l'expérimentation ou une rétraction trop importante de l'extrémité sectionnée du nerf, ou encore une absence de tissu appartenant au territoire de régénération du membre. A ce propos, l'épau-  
le de Pleurodèle qui, à égale distance de la base du membre et de la crête dorsale, ne réagit pas à la stimulation du nerf (série 90), peut être considérée comme située en dehors du territoire de régénération du membre antérieur.

BODEMER (1960) a montré l'existence d'une relation entre le nombre de fibres nerveuses des nerfs déviés d'une part, la fréquence et le degré de développement des membres néoformés correspondants d'autre part. Toutefois, l'auteur ne prête pas aux nerfs une influence morphogénétique directe, les nerfs devant agir, selon lui, en facilitant la dédifférenciation des muscles traumatisés ou implantés et, par suite, l'apport de cellules au blastème. L'agent neurotrope, selon TASSAVA et MESCHER (1975), assure la mitose des cellules du blastème, la dédifférenciation et la synthèse d'ADN étant indépendantes de la présence des nerfs. La libération de cet agent neurotrope doit être sensiblement égale dans toutes nos séries mais les résultats sont très différents. La raison de la variabilité observée dans nos résultats doit être recherchée au niveau des tissus présents au point d'émergence du nerf.

## 2 - IMPORTANCE DE L'ORIGINE DES TISSUS PRESENTS AU NIVEAU DE L'EMERGENCE DU NERF DEVIE

Nous avons établi dans les chapitres II et III que le degré de morphogenèse des membres régénérés dépendait des contacts entre tissus, cutanés ou musculaires, de qualités différentes. La présence de deux qualités opposées, dorsale et ventrale par exemple, permettrait la genèse d'un membre complet, tandis que la présence d'une seule qualité de tissu, dorsale par exemple, ne permet au mieux que la régénération d'un membre hypomorphe.

Les résultats relatifs au développement des membres aux points d'émergence des nerfs déviés confirment ce qui a été démontré à propos de la régénération des membres amputés.

a) Absence de contact entre tissus provenant de faces opposées

L'exposé des résultats des séries 86 à 90 montre qu'aucune prestation apparue au point d'émergence des nerfs déviés ne s'est développée en un membre complet harmonieusement développé. Les blastèmes formés ne donnent naissance qu'à des prestations peu développées. Les tissus situés au point d'émergence du nerf brachial sont donc incapables de constituer un centre morphogénétique, c'est-à-dire d'être le centre d'organisation d'un membre bien développé. Les expériences des séries 86 à 90 ont été réalisées par plusieurs auteurs. Parmi ceux-ci GUYENOT *et al.* (1948) dévient le nerf brachial d'un Triton sur les faces dorsale et ventrale du bras ou encore au voisinage de la base du membre. Cette déviation est d'ailleurs accompagnée de l'amputation du membre, partielle ou totale. Une néoformation se développe dans 10 % des cas. Les résultats des déviations au niveau du bras sont variables. Les auteurs observent des formations qui fusionnent avec le régénérat axial et des formations distinctes de ce dernier, le plus souvent hypotypiques, mais parfois correspondant à des membres bien développés et dans certains cas orientés comme les régénérats axiaux. Quand la déviation du nerf brachial est réalisée au voisinage de la base du membre amputé au ras de l'épaule, ils constatent que des membres complets ne se développent qu'en l'absence de régénération axiale. De plus, chez le Triton utilisé par GUYENOT et ses collaborateurs, la déviation nerveuse réalisée entre la patte et la crête dorsale est à l'origine d'une forte proportion de membres multiples alors que la même expérience sur le Pleurodèle ne donne naissance à aucune prestation. Des membres hypotypiques, simples ou complexes ont également été obtenus chez *Triturus viridescens* par déviation des nerfs brachiaux dans la région pectorale (BODEMER, 1958). L'auteur conclut à l'importance du traumatisme dans la genèse de ces membres. En 1959, BODEMER dévie le nerf du bras dans la région pectorale et constate cette fois l'absence de tout développement en l'absence de lésion tissulaire.

b) Association de tissus provenant de faces opposées et développement de membres simples

Nous avons réalisé au point d'émergence du nerf dévié, un contact hétérogène entre la peau et la musculature en place d'une part, et les tissus greffés provenant d'une zone diamétralement opposée d'autre part. Les séries 91, 92, 93, 96, 97 et 98 ont permis le développement d'un membre néoformé simple. Dans toutes ces expériences il y a un

un contact direct entre les tissus dorsal et ventral (ou antérieur et postérieur) sans que les axes antéro-postérieurs (ou dorso-ventraux) des tissus associés soient en opposition. Les associations tissulaires de toutes ces séries expérimentales sont responsables non seulement du degré de développement des membres néoformés mais encore de leur orientation. En effet, les orientations dorso-ventrale et antéro-postérieure des tissus, présentes ou imposées par l'expérience au voisinage du point d'émergence du nerf dévié, déterminent les orientations correspondantes des néoformations.

Nous pouvons également expliquer ces résultats en utilisant les valeurs de position réparties de façon régulière selon le modèle représenté à la figure 17, a. Dans la série 92 par exemple (Fig. 75, a), la création d'un centre de morphogénèse, l'orientation de la néoformation par rapport au membre se comprennent aisément en considérant les valeurs de position présentes dans la peau et celles venant s'y intercaler par application de la première loi du modèle de FRENCH *et al.* (1976).

BODEMER (1959) a également associé des tissus variés au point d'émergence du nerf dévié, ces tissus pouvant être source de cellules du blastème, se substituant, selon l'auteur, au traumatisme nécessaire au développement d'un membre surnuméraire. Des formations à 2, 3 ou 4 doigts selon les cas, apparaissent non seulement après greffe d'os, de cartilage, de muscles squelettiques ou de peau, mais encore après implantation, sous la peau du membre, de foie, de poumon ou de rein. Il est bien difficile de dire quelle est la participation de tels tissus à la formation du blastème. Il est même possible qu'ils aient été lysés sans participer directement au développement du membre néoformé, de tels résultats seraient alors à rapprocher de ceux de RUBEN et FROTHINGHAM (1958). Après implantation sous la peau de membre de *Triturus viridescens*, de rein de grenouille, en l'absence même de déviation nerveuse, un membre accessoire pouvait se développer au niveau de la greffe. Par lyse ménagée du derme, s'établissait un contact entre épiderme et fibres nerveuses. A notre avis, le degré de développement des membres surnuméraires obtenus par RUBEN et FROTHINGHAM pourrait être lié au contact des cellules de faces opposées, donc au caractère plus ou moins profond de la lyse des tissus de membre. CARLSON (1967), à partir d'expériences voisines, observe des degrés de développement allant de la simple pointe au membre bien développé. Il fait les mêmes observations que RUBEN et FROTHINGHAM mais n'explique pas non plus la morphogénèse des membres néoformés.

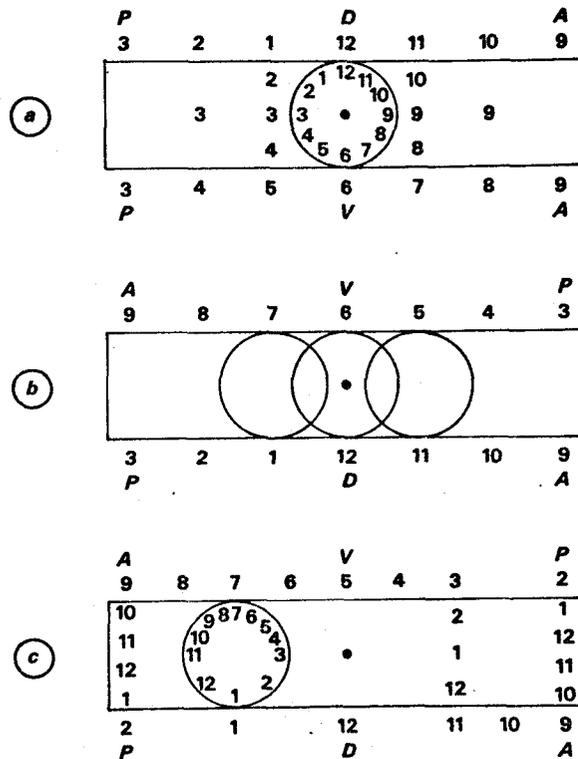


Fig. 75 - Néof ormation d'un membre de *Pleurodeles* à l'extrémité d'un nerf dévié. Développement dans un plan de la moitié dorsale d'un membre opéré des séries 92 et 95 dans la région de l'émergence du nerf dévié (point noir). L'espace laissé entre la peau proximale greffée et la peau distale en place permet de matérialiser la régénération intercalaire des valeurs de position entre les points de contact.

- a - Représentation des contacts des valeurs de position au voisinage du nerf dévié dans la série 92. La position, le degré de développement (membre simple) et l'orientation de la néof ormation s'expliquent par le modèle représenté à la figure 17, a.
- b - Explication des résultats de la série 95 en admettant l'existence d'une séquence uniforme des valeurs selon le modèle représenté à la figure 17, a. Chaque point de contact correspond à l'écart maximum des valeurs de position et peut donc être un centre morphogénétique potentiel. Trois cercles de valeurs de position matérialisent trois centres possibles de morphogenèse d'un membre néof ormé. Selon l'étendue de la stimulation du nerf dévié, un ou plusieurs centres sont affectés et des membres simples ou complexes se développent. L'orientation antéro-postérieure de ces membres semble se déterminer au hasard, comme le prouvent les résultats.
- c - Selon le modèle de BRYANT et ITEN (1976), la séquence circulaire des valeurs de position (1 à 12) serait non uniforme (Fig. 17, b). L'application de ce modèle à la série 95 montre qu'un membre néof ormé simple, matérialisé par un cercle de valeurs de position pourrait se former, mais sa position ne correspondrait pas au point d'émergence du nerf. Ni la position de la néof ormation, ni son degré de développement ne correspondraient aux résultats obtenus.



c) Associations de tissus de faces opposées et développement de membres complexes

Le développement de membres néoformés complexes a été observé dans les séries d'expériences 94 et 95. Ces résultats supposent, non plus la création d'un centre morphogénétique simple, unique, mais d'un centre complexe ou de plusieurs centres simples adjacents. Nous avons rencontré des situations analogues dans les expériences relatées dans les deux premiers chapitres. La greffe homopleurale d'un blastème de régénération après une rotation de 180 degrés (série 3) tout comme celle d'un manchon de peau autour des tissus axiaux au niveau du moignon d'amputation (série 25) a pour résultat, selon notre hypothèse, la création de nombreux centres morphogénétiques potentiels adjacents. Nous avons représenté dans la figure 75 b, trois de ces centres en considérant ici encore une répartition régulière des valeurs de position. Dans cette situation, le nerf brachial émerge en une zone où se trouvent plusieurs centres morphogénétiques très voisins. Il se développe un membre simple ou un membre complexe, ce dernier correspondant à deux ou plusieurs membres dont les structures ont plus ou moins fusionné.

L'idée que des interactions séparées entre, d'une part la peau greffée et la peau en place, d'autre part, la peau greffée et la musculature en place, pourraient être responsables de la genèse de membres complexes ne peut être retenue car des interactions équivalentes devraient se manifester dans les séries 91, 92 et 93 et se traduire par la genèse de membres complexes, ce qui n'a jamais été constaté. Les rôles morphogénétiques de la peau et de la musculature du membre sont comparables.

Les résultats des séries 94 et 95 sont analogues à ceux que BART (1969) a obtenus chez l'Insecte *Carausius morosus* à partir d'expériences comparables aux nôtres. Ces expériences consistent à prélever un rectangle de tégument sur une face antérieure de coxa et à le greffer homolatéralement en place d'un rectangle de tégument de face postérieure de coxa. Les polarités dorso-ventrales du greffon et du tégument en place sont aussi contraires. Dans plusieurs cas, on peut observer au niveau du contact distal, l'apparition d'un appendice double. De tels résultats sont donc conformes à ceux des séries 94 et 95.

En conclusion, le degré de morphogenèse des néoformations obtenues dans nos expériences de déviation du nerf brachial, dépend des qualités des tissus mis en contact à l'extrémité du nerf dévié. Selon nous, une telle morphogenèse obéit aux mêmes lois que la morphogenèse régénératrice.

### 3 - ROLES RESPECTIFS DES CONTACTS ENTRE TISSUS DE FACES OPPOSEES ET DE LA STIMULATION NERVEUSE

BRYANT et ITEN (1976) ont supposé que l'apparition des formations surnuméraires était sous contrôle de seuls contacts de tissus affectés des valeurs de position différant strictement de six unités. Les valeurs de position autour du membre sont inégalement espacées, selon elles (Fig. 17, b) et cette répartition irrégulière explique que le nombre maximal de formations surnuméraires est deux et que la position de celles-ci est parfaitement définie. Elles ne discutent pas du rôle éventuel des nerfs dans ces résultats. L'application de leur modèle à nos séries 94 ou 95 (Fig. 75, c) d'une part ne permettrait d'expliquer que la néoformation d'un membre simple, et d'autre part, la position de ce dernier ne correspondrait pas à celle du point d'émergence du nerf dévié. A l'opposé, la séquence régulière des valeurs de position dont nous admettons l'existence explique le degré de développement des néoformations que nous avons obtenues tandis que la stimulation nerveuse équivalente dans toutes les séries d'expériences n'est responsable que de l'initiation de morphogenèse, l'organisation étant sous le seul contrôle des qualités des tissus mis en présence.

### 4 - DEVELOPPEMENT PROXIMO-DISTAL DES NEOFORMATIONS

Toutes les néoformations présentent une déficience proximale. Alors que les points d'émergence du nerf brachial correspondent au milieu du stylo-pode, le développement proximo-distal des néoformations se limite à l'autopode et à la moitié du zeugopode. Nous avons également observé dans les chapitres précédents, un développement proximal déficient des membres surnuméraires obtenus à la suite de greffes de blastèmes (chapitre I) ou de contacts entre tissus de faces opposées sur le moignon d'un membre non irradié (chapitre II) ou irradié (chapitre III). Une telle déficience ne s'observe pas sur le régénérat formé à la suite d'une simple amputation. Dans toutes nos expériences il semble donc que la formation des structures distales soit prioritaire. L'autodifférenciation des moitiés proximale ou distale de blastème de régénération de membre d'Amphibien conduit au développement de structures distales (FABER, 1960 ; STOCUM, 1968). Toutefois, il est généralement admis que les parties proximales du membre sont déterminées avant les parties distales (FABER, 1976) comme le démontrent la différenciation de moitiés proximales de bourgeons de membres en absence de tout contact avec

l'épiderme (TSCHUMI, 1957 ; STOCUM, 1968 ; MICHAEL et FABER, 1971 ; STOCUM et DEARLOVE, 1972). On peut admettre qu'une portion de blastème transplantée puisse être résorbée (FABER, 1976) mais aucune explication satisfaisante ne rend compte de la déficience proximale du membre au niveau d'une déviation nerveuse.

### CONCLUSION

Les résultats de la déviation du nerf brachial à la surface du membre, avec ou sans apport de tissu de face opposée à ce niveau, ont permis de confirmer, chez *Pleurodeles waltlii*, que le contact de tissus d'au moins deux faces opposées est indispensable à l'obtention d'un membre bien formé. Ces résultats et conclusions sont en accord avec ceux relatifs à l'obtention des membres surnuméraires régénérés et à la régénération des membres irradiés. Cet ensemble permet donc de souligner l'importance fondamentale du contact de tissus provenant de faces opposées dans le développement harmonieux du membre.

CONCLUSION GENERALE

L'objet de notre travail a consisté à rechercher les facteurs responsables de la morphogenèse du membre de triton en régénération. Nous avons obtenu des morphogenèses d'ampleur variable en recourant essentiellement aux procédures suivantes : - greffes de tissus sur un moignon de membre irradié,  
- greffes de blastème et de tissus différenciés sur un moignon de membre non irradié,  
- greffes de tissus au point d'émergence de nerf dévié.

Ces résultats mettent en évidence certains facteurs impliqués dans la morphogenèse et nous amènent à distinguer des conditions indispensables à toute initiation de morphogenèse et des facteurs conditionnant le degré de développement morphogénétique.

#### A - CONDITIONS INDISPENSABLES À L'INITIATION DE MORPHOGENÈSE

Un certain nombre de facteurs s'avèrent indispensables à toute initiation de morphogenèse, chacun d'eux n'amenant qu'une contribution nécessaire mais insuffisante pour que la morphogenèse ait lieu.

##### 1 - TRAUMATISME

Le traumatisme est une condition nécessaire à la dédifférenciation des tissus. Celle-ci peut être néanmoins indépendante de la régénération.

##### 2 - PRESENCE DE NERFS

Nous avons démontré que la présence de nerfs était indispensable à la genèse des membres surnuméraires, ces derniers se développant de façon préférentielle dans les régions bien innervées ou recevant un apport supplémentaire de fibres nerveuses, à la condition que les autres conditions de réalisation d'un centre morphogénétique surnuméraire aient été réunies. Ces résultats et conclusions sont en accord avec ceux de SINGER (1974) qui a montré le caractère indispensable de la présence des nerfs dans la régénération. Nous avons également montré que l'irradiation X totale du corps ne supprime pas l'action trophique des nerfs, un triton totalement irradié pouvant dans des conditions particulières assurer le développement d'une morphogenèse.

##### 3 - EPIDERME

Nos résultats expérimentaux permettent de conclure que l'épiderme est indispensable à l'initiation de morphogenèse. Aucune néoformation ne se développe

à partir du moignon de membre d'un animal totalement irradié si un apport d'épiderme non irradié n'a pas lieu. Dans les cas où seul le membre est irradié, si le greffon ne comporte pas d'épiderme non irradié, ce dernier devra migrer à partir des régions du corps non irradiées. L'épiderme est donc indispensable à la formation d'un blastème de régénération, ce qu'avaient démontré les expériences d'ablation de l'épiderme recouvrant les blastèmes de régénération (THORNTON, 1957). Le contact entre l'épiderme et les cellules mésenchymateuses du blastème sous-jacent semble être, selon TASSAVA et LOYD (1977), un facteur de maintien des divisions cellulaires et donc de la croissance distale du régénérat.

L'utilisation de marqueurs biologiques, qui nous a permis de montrer que seul l'épiderme non irradié recouvrait la néoformation développée à l'extrémité d'un moignon de membre irradié, nous a permis également de constater une migration lente de l'épiderme à partir du tronc vers l'extrémité du membre. L'épiderme du membre est totalement renouvelé en une période de six mois.

Lorsque les trois conditions qui viennent d'être évoquées sont réunies, une initiation de morphogénèse est possible. Nous l'avons mise en évidence en déviant le nerf brachial à la surface du membre. Un blastème peut apparaître à l'extrémité du nerf dévié mais un membre bien constitué ne se développe pas. Donc toute initiation de morphogénèse n'est pas implicitement suivie du développement normal d'un membre. Nous avons montré en complément que le développement de morphogénèse était sous contrôle des tissus du membre.

## B - CONDITIONS DE DÉVELOPPEMENT DE MORPHOGENÈSE

La recherche des conditions de développement de morphogénèse a été effectuée en étudiant les facteurs responsables de la genèse soit de néoformations à l'extrémité distale d'un moignon de membre irradié, soit de formations surnuméraires.

### 1 - NEOFORMATIONS DEVELOPPEES SUR LE MOIGNON D'UN MEMBRE IRRADIE

Après la greffe de peau, de derme, de tissus musculaires ou d'humérus, nous avons observé le développement de néoformations dont le squelette correspondait à celui d'un membre normal. A l'opposé, l'épiderme est incapable d'assurer, seul, le développement d'une telle néoformation. Nos expériences ont montré que tous les tissus de membre, d'origine

mésenchymateuse sont capables de fournir des cellules à l'origine de la formation de la peau et du squelette. Par contre, les tissus musculaires semblent ne procéder que des muscles préexistants. Puisque chaque catégorie tissulaire peut être à l'origine du squelette néoformé nous avons recherché les conditions nécessaires et suffisantes à la genèse d'un membre néoformé à squelette normal. Pour cela des greffes de tissus non irradiés ont été réalisées sur le moignon d'un membre irradié en tenant compte du lieu de prélèvement des tissus et des qualités de tissus associés sur le moignon porte-greffe.

Nos expériences d'associations de peau ou de muscles prélevés sur deux faces opposées d'un membre non irradié, aboutissent à la formation d'un membre bien constitué. De même l'humérus permet le développement d'une néoformation correspondant à un membre bien développé. A l'opposé, les greffes de peau ou de muscle prélevés sur une seule face ne conduisent pas au développement d'une morphogenèse comparable à celle d'un membre normal. Cette dernière condition n'étant pas suffisante à la genèse d'un membre normal, nous avons associé dans le moignon d'un membre irradié des tissus de faces différentes mais non opposées. Une certaine proportion de membres normaux a été obtenue.

## 2 - FORMATIONS SURNUMÉRAIRES

Trois ensembles expérimentaux sont à l'origine de l'obtention de membres à formations surnuméraires : (1) la greffe de blastèmes de régénération sur un moignon en créant une dysharmonie d'orientation des axes transverses du greffon et du moignon ; (2) la greffe de tissus cutanés ou musculaires sur le moignon d'amputation d'un membre non irradié ; (3) l'association de tissus de faces opposées au point d'émergence du nerf brachial dévié. Dans toutes ces expériences nous avons constaté que le développement d'un membre surnuméraire bien constitué s'observe au niveau des contacts entre les tissus de faces opposées, une zone de contact produisant un membre surnuméraire, deux zones de contact pouvant conduire à la production d'un membre triple, tandis que des nombreuses zones de contact sont à l'origine du développement de membres doubles, triples ou plus complexes encore. Un membre complexe peut être interprété comme le résultat du développement de plusieurs centres de morphogenèse juxtaposés.

## 3 - DISCUSSION

Les néoformations développées sur le moignon d'un membre irradié tout comme les formations surnuméraires semblent requérir les mêmes conditions de morphogenèse. Chez les Amphibiens comme chez les Insectes, différentes hypothèses ont été proposées pour expliquer la genèse des formations surnuméraires (HARRISON,

1921 ; PRZIBRAM, 1921 ; BART, 1965 ; FRENCH *et al.*, 1976). HARRISON (1921) suppose que l'implantation du bourgeon de membre sur sa base après une rotation de 180 degrés entraîne le dédoublement du champ morphogénétique du membre. Pour expliquer une triplification du membre il faut admettre également un dédoublement de l'apex greffé. PRZIBRAM (1921) admet à la suite de l'expérience de DELLA VALLE (1913) que deux membres surnuméraires peuvent apparaître sur les deux lèvres d'une coupure maintenues séparées, l'un dérive de la régénération normale de la base en direction distale tandis que l'autre dérive de la régénération en direction proximale du bord distal de la plaie. Certains résultats obtenus chez les Arthropodes (BODENSTEIN, 1937 ; BULLIERE, 1970 ; LHEUREUX, 1971) s'expliquent aisément selon cette hypothèse, encore faut-il comprendre pourquoi les tissus accolés d'un moignon et d'une extrémité distale, "s'isolent" physiologiquement les uns des autres. Chez le Pleurodèle, en utilisant des marqueurs biologiques nous avons montré que les deux membres surnuméraires d'un membre triple pouvaient être constitués de cellules provenant du greffon et du moignon, résultat qui ne peut s'expliquer selon l'hypothèse de PRZIBRAM mais qui s'accorde avec les idées de BART (1965) sur la morphogenèse d'appendices surnuméraires. Ces derniers sont obtenus par l'auteur chez le phasme *Carausius morosus*. BART reconnaît l'importance des contacts entre les tissus de faces opposées dans la morphogenèse des appendices surnuméraires, ces derniers seraient le résultat d'une coopération des tissus de faces opposées associées. En 1976, V. FRENCH, P. BRYANT et S. BRYANT proposent, pour l'appendice d'insecte et le membre d'amphibien, un modèle selon lequel le plan transverse d'un membre serait affecté de valeurs de position selon une séquence circulaire. WOLPERT (1969, 1971) avait proposé le terme de valeurs de position qui définit chaque cellule d'un organe par rapport aux autres cellules qui l'entourent. FRENCH *et al.* (1976) conçoivent que, sur le membre ou l'appendice ces valeurs sont réparties selon un cylindre creux. En réalité, nous avons démontré le rôle morphogénétique de l'os et nous pensons que toute cellule du membre doit être affectée d'une valeur de position. Pour expliquer le développement d'un centre surnuméraire, FRENCH *et al.* (1976) supposent que toutes les valeurs de position de la séquence transverse circulaire doivent être présentes (loi du cercle complet) pour que la croissance proximo-distale ait lieu. Nos résultats et ceux d'autres auteurs correspondent parfois à des membres hypomorphes, ce qui est en désaccord avec cette loi. La deuxième loi du modèle des auteurs est la loi de la "route la plus courte", c'est-à-dire

que lorsque deux tissus de valeurs de position non adjacentes entrent en contact, les valeurs de position intermédiaires se mettent en place entre celles-ci, selon la route la plus courte. Pour qu'il y ait une séquence circulaire complète de valeurs de position, il faut donc qu'il y ait au moins des tissus de faces opposées associés, et nos résultats, dans leur majorité s'accordent avec cette conception. Toutefois l'association de tissus de faces différentes mais non opposées a également permis le développement de membres normaux ce qui suppose la mise en place de toutes les valeurs de position transverses. Ces résultats sont en désaccord avec cette loi de la route la plus courte. BRYANT et ITEN (1976) ont même supposé que les valeurs de position de la séquence circulaire n'étaient pas réparties de façon uniforme, afin d'expliquer la présence maximale de deux membres surnuméraires. Or certains de nos résultats tout comme les membres quadruples obtenus par RAHMANI (1960) démontrent qu'il peut y avoir plus de deux centres morphogénétiques surnuméraires chez les Amphibiens. De tels résultats ne peuvent s'établir que s'il y a une coopération des cellules du moignon et du greffon à la constitution des membres surnuméraires. Finalement, l'idée d'une séquence circulaire selon un cylindre plein peut s'accorder avec l'hypothèse selon laquelle on considère l'existence d'un grand nombre d'axes transverses, le contact entre les tissus opposés prélevés le long d'un axe, de part et d'autre du centre, pouvant pareillement être à l'origine d'un centre de morphogenèse. Elle a l'avantage de simplifier les explications.

### C - CONTRÔLE DU DÉVELOPPEMENT PROXIMO-DISTAL

Deux problèmes ont été abordés, celui de l'importance de la modification de l'orientation proximo-distale des tissus dans la régénération et celui de la régulation du développement proximo-distal.

Nous avons montré que la rotation de 90 degrés de l'axe proximo-distal d'un tissu greffé n'affectait en aucune façon le développement normal du membre. Ce facteur n'est ni responsable de l'absence de régénération d'un moignon de membre irradié sur lequel une bande de peau est greffée en manchon, comme le pensaient UMANSKI *et al.* (1951), ni responsable de la genèse de membres surnuméraires quand cette bande de peau est greffée sur un membre non irradié, comme le supposait SETTLES (1967).

Nous avons introduit des déficiences ou des excédents dans la séquence proximo-distale d'un membre en régénération et nous avons constaté, après d'autres auteurs, qu'une déficience était suivie d'une régulation de croissance se

traduisant par la mise en place d'un régénérat intercalaire. Par contre il n'y a pas de régulation des excédents. D'autres expériences montrent que la peau et les tissus axiaux participent au contrôle du développement proximo-distal du membre.

Ces résultats posent le problème de la participation de cellules différenciées à la constitution de structures plus proximales. SUMMERBELL *et al.* (1973) ont proposé une hypothèse selon laquelle la valeur de position des cellules le long de l'axe proximo-distal serait déterminée par le nombre de mitoses subies par les cellules ou leurs ascendants. Ainsi la transformation distale serait irréversible. Or, DE BOTH (1970) chez les Amphibiens, BOHN (1970, a, b, 1971, 1976) et BULLIERE et SENDEL (1970, b) chez les Arthropodes, KIENY et PAUTOU (1977) chez les Oiseaux ont des résultats en opposition avec cette loi. Chez le Pleurodèle nous n'avons pas observé de transformations de valeurs distales en valeurs proximales. Toutefois l'utilisation de marqueurs biologiques devrait préciser la participation respective des tissus proximaux et distaux à la constitution de membres surnuméraires induits par contact entre les faces opposées de ces tissus.

BIBLIOGRAPHIE

## A

- ABELOOS M. et LECAMP M., 1931 - Sur la production de formations anormales et multiples dans les membres du triton par transplantation de régénérats. C. R. Acad. Sc., 192, 639-641.
- AMPRINO R. et CAMOSSO M., 1955 - Le rôle morphogénétique de la crête apicale du bourgeon des membres de l'embryon de poulet. C. R. Assoc. Anat., 42, 197-203.
- AMPRINO R. et CAMOSSO M., 1959 - Observations sur les duplications expérimentales de la partie distale de l'ébauche de l'aile chez l'embryon de poulet. Arch. Anat. Micr. Morph. Exp., 48, 261-305.

## B

- BARR H.J., 1964 - The fate of epidermal cells during limb regeneration in larval *Xenopus*. Anat. Rec., 148, 358.
- BART A., 1965 - Sur l'origine des formations surnuméraires au cours de la régénération des pattes chez *Carausius morosus* Br. C. R. Acad. Sc., 261, 1901-1903.
- BART A., 1969 - Recherches expérimentales sur le déclenchement et le développement de morphogenèses de type régénératrices chez un Insecte : *Carausius morosus* Br. Thèse de Doctorat (Etat), Fac. Sci. Lille.
- BART A., 1971 - Morphogenèse surnuméraire au niveau de la patte du phasme *Carausius morosus* Br. Wilhelm Roux' Arch., 166, 331-364.
- BART A., 1972 - Morphogenèse provoquée par une discontinuité proximo-distale au niveau de la patte de *Carausius morosus* Br. Associations de niveaux différenciés. Arch. Biol. (Liège), 83, 129-166.
- BATESON W., 1894 - Materials for the study of variation treated with especial regard to discontinuity in the origin of species. Mac Millan and Company, London.

- BEETSCHEN J.C., 1960 - Recherches sur l'hétéroploïdie expérimentale chez un Amphibien Urodèle *Pleurodeles waltlii* Michah. Bull. Biol. Fr. Belg., 96, 12-127.
- BENZO M.M., BENZO C.A. et MANNER H.W., 1975 - Morphogenesis of the carpal elements in the regenerating forelimb of adult *Notophthalmus viridescens viridescens*. Anat. Rec., 183, 421-430.
- BISCHLER V., 1925 - Régénération des pattes de triton après ablation du squelette du zeugopode ou de l'autopode. C. R. Soc. Biol., 92, 776-778.
- BISCHLER V. et GUYENOT E., 1925 - Régénération des pattes de triton après extirpation du squelette des ceintures ou du stylopode. C. R. Soc. Biol., 92, 678-680.
- BLOUNT I.W.H., 1935 - The anatomy of normal and reduplicated limbs in amphibia, with special reference to musculature and vascularization. J. exp. Zool., 69, 407-457.
- BODEMER C.W., 1958 - The development of nerve-induced supernumerary limb in the adult newt *Triturus viridescens*. J. Morph., 102, 555-581.
- BODEMER C.W., 1959 - Observations on the mechanism of induction of supernumerary limbs in adult *Triturus viridescens*. J. exp. Zool., 140, 79-100.
- BODEMER C.W., 1960 - The importance of quantity of nerve fibers in development of nerve-induced supernumerary limbs in *Triturus* and enhancement of the nervous influence by tissue implants. J. Morph., 107, 47-59.
- BODENSTEIN D., 1937 - Beintransplantationen an Lepidopterenraupen. IV. Zur Analyse experimentell erzeugter Beinmehrfachbildungen. Wilhelm Roux' Arch., 136, 745-785.
- BOHN H., 1965 - Analyse der Regenerationsfähigkeit der Insektenextremität durch Amputations- und Transplantationsversuche an Larven der afrikanischen Schabe (*Leucophaea maderae* Fabr.). II. Achsendetermination. Wilhelm Roux' Arch., 156, 449-503.
- BOHN H., 1970 a - Interkalare Regeneration und segmentale Gradienten bei den Extramitäten von *Leucophaea* Larven (Blattaria). I. Femur und Tibia. Wilhelm Roux' Arch., 165, 303-341.

BULLIERE D. et SENDEL P., 1970 b- Nouvelles données sur la détermination qualitative des cellules au cours de la régénération chez les Insectes. C. R. Acad. Sc., 270, 2556-2559.

BUTLER E.G., 1933 - The effects of X-irradiation on the regeneration of the forelimbs of *Amblystoma* larvae. J. exp. Zool., 65, 271-315.

## C

CAMERON J. et FALLON J.F., 1977.- Evidence for polarizing zone in the limb buds of *Xenopus laevis*. Develop. Biol., 55, 320-330.

CARLSON B.M., 1967 - Studies on the mechanism of implant-induced supernumerary limb formation in Urodeles. I. The histology of supernumerary limb formation in the adult newt, *Triturus viridescens*. J. exp. Zool., 164, 227-242.

CARLSON B.M., 1974 - Morphogenetic interactions between rotated skin cuffs and underlying stump tissues in regenerating axolotl forelimbs. Develop. Biol., 39, 263-285.

CARLSON B.M., 1975 a - Multiple regeneration from axolotl limb stumps bearing cross-transplanted minced muscle regenerates. Develop. Biol., 45, 203-208.

CARLSON B.M., 1975 b - The effects of rotation and positional change of stump tissues upon morphogenesis of the regenerating axolotl limb. Develop. Biol., 47, 269-291.

CHALKEY D.T., 1954 - A quantitative histological analysis of forelimb regeneration in *Triturus viridescens*. J. Morph., 94, 21-70.

CHALKEY D.T., 1959 - The cellular basis of limb regeneration. *in* Regeneration in Vertebrates. C.S. THORNTON Ed. Univ. of Chicago Press, Chicago, p. 34-58.

CONN H., WESSELS S. et WALLACE H., 1971 - Regeneration of locally irradiated salamander limbs following superficial skin incisions of nerve transections. J. exp. Zool., 178, 359-368.

- BOHN H., 1970 b - Interkalare Regeneration und segmentale Gradienten bei den Extremitäten von *Leucophaea*-Larven (Blattaria). II. Coxa und Tarsus. *Develop. Biol.*, 23, 355-379.
- BOHN H., 1971 - Interkalare Regeneration und segmentale Gradienten bei den Extremitäten von *Leucophaea*-Larven (Blattaria). III. Die Herkunft des interkalaren Regenerates. *Wilhelm Roux' Arch.*, 167, 209-221.
- BOHN H., 1972 - The origin of epidermis in the supernumerary regenerates of triple legs in cockroaches (Blattaria). *J. Embryol. exp. Morph.*, 28, 185-208.
- BOHN H., 1974 - Pattern reconstitution in abdominal segment of *Leucophaea maderae*. *Nature*, 248, 608-609.
- BOHN H., 1976 - Regeneration of proximal tissues from a more distal amputation level in the insect leg (*Blaberus craniifer*, Blattaria). *Develop. Biol.*, 53, 285-293.
- BOILLY-MARER Y., 1969 - Induction expérimentale de parapodes surnuméraires chez l'Annélide Polychète *Nereis pelagica* L. *C. R. Acad. Sc.*, 268, 1300-1302.
- BRUNST V.V., 1944 - Untersuchung des Einflusses von Röntgestrahlen auf die regenerierenden und erwachsenen Extremitäten bei Urodelen. *Wilhelm Roux' Arch.*, 142, 668-705.
- BRYANT P., 1975 - Pattern formation in the imaginal wing disc of *Drosophila melanogaster* : Fate map, regeneration and duplication. *J. exp. Zool.*, 193, 49-78.
- BRYANT S.V., 1976 - Regenerative failure of double half limbs in *Notophthalmus viridescens*. *Nature*, 263, 676-679.
- BRYANT S.V. et ITEN L.E., 1976 - Supernumerary limbs in Amphibians : Experimental production in *Notophthalmus viridescens* and a new interpretation of their formation. *Develop. Biol.*, 50, 212-234.
- BRYANT S.V. et ITEN L.E., 1977 - Intercalary and supernumerary regeneration in regenerating and mature limbs of *Notophthalmus viridescens*. *J. exp. Zool.*, 202, 1-16.
- BULLIERE D., 1970 - Interprétation des régénérats multiples chez les Insectes. *J. Embryol. exp. Morph.*, 23, 337-357.
- BULLIERE D. et SENDEL P., 1970 a - Sur le déterminisme de la différenciation qualitative des cellules au cours de la régénération des appendices thoraciques chez *Blabera craniifer* (Insecte Dictyoptère). *C. R. Acad. Sc.*, 270, 1141-1144.

## D

- DE BOTH N.J., 1965 - Enhancement of the self-differentiation capacity of the early limb blastema by various experimental procedures. *in* Regeneration in Animals and related problems. V. Kiortsis and H.A.L. Trampusch eds. North Holland Publishing Company, Amsterdam p. 420-426.
- DE BOTH N.J., 1970 - The developmental potencies of the regeneration blastema of the axolotl limb. *Wilhelm Roux' Arch.*, 165, 242-276.
- DECK J.D. et DENT J.N., 1970 - The effects of infused materials upon the regeneration of newt limbs. III. Blastemal extracts and alkaline phosphatase in irradiated limb stumps. *Anat. Rec.*, 168, 523-536.
- DE HAAN R.L., 1956 - The serological determination of developing muscle protein in the regenerating limb of *Amblystoma mexicanum*. *J. exp. Zool.*, 133, 73-85.
- DELLA VALLE P., 1913 - La doppia rigenerazione inversa nelle fratture della Zampe di Triton. *Boll. Soc. Nat. Napoli*, 25, 95-161.
- DESHA D.L., 1974 - Irradiated cells and blastema formation in the adult newt *Notophthalmus viridescens*. *J. Embryol. exp. Morph.*, 32, 405-416.
- DESSELLE J.C., 1968 - Restauration de la régénération par des implants de cartilage dans les membres irradiés de *Triturus cristatus*. *C. R. Acad. Sc.*, 267, 1642-1645.
- DROIN A., 1959 - Potentialités morphogènes dans la peau de triton en régénération. *Rev. Suisse de Zool.*, 66, 641-709.
- DUNIS D.A. et NAMENWIRTH M., 1977 - The role of grafted skin in the regeneration of X-irradiated Axolotl limbs. *Develop. Biol.*, 56, 97-109.

## E

- EGGERT R.C., 1966 - The response of X-irradiated limbs of adult Urodeles to autografts of normal cartilage. *J. exp. Zool.*, 161, 369-390.

## F

- FABER J., 1960 - An experimental analysis of regional organization in the regenerating forelimb of the axolotl (*Ambystoma mexicanum*). Arch. Biol. Liège, 71, 1-72.
- FABER J., 1962 - Additional experiments on the self-differentiation of transplanted whole and half fore limb regenerates of *Ambystoma mexicanum*. Arch. Biol., 73, 369-378.
- FABER J., 1965 - Autonomous morphogenetic activities of the Amphibian regeneration blastema. *in* Regeneration in Animals and related problems, V. Kiortsis et H.A.L. Trampusch eds. North-Holland Publ. Company, Amsterdam, p. 404-419.
- FABER J., 1971 - Vertebrate limb ontogeny and limb regeneration : Morphogenetic parallels. *in* Adv. Morph., 9, M. Abercrombie, J. Brachet et T.J. King Eds. Acad. Press, New York et Londres, p. 127-148.
- FABER J., 1976 - Positional information in the amphibian limb. Acta Biotheoretica, 25, 44-65.
- FALLON F.J. et CROSBY G.M., 1975 - The relationship of the zone of polarizing activity to supernumerary limb formation (twinning) in the chick wing bud. Develop. Biol., 43, 24-34.
- FRANCIS E.T.B., 1934 - The anatomy of the salamander. Oxford Univ. Press London.
- FRENCH V., 1976 - Leg regeneration in the cockroach, *Blattella germanica*. II. Regeneration from a non-congruent tibial graft/host junction. J. Embryol. exp. Morph., 35, 267-301.
- FRENCH V., BRYANT P.J. et BRYANT S.V., 1976 - Pattern regulation in epimorphic fields. Science, 193, 969-981.

## G

- GABE M., 1968 - Techniques histologiques. Masson et Cie Ed.

- GLADE R.W., 1963 - Effects of tail skin, epidermis and dermis on limb regeneration in *Triturus viridescens* and *Siredon mexicanum*. J. exp. Zool., 152, 169-189.
- GOSS R.J., 1956 - The relation of bone to the histogenesis of cartilage in regenerating forelimbs and tails of adult *Triturus viridescens*. J. Morph., 98, 89-123.
- GOSS R.J., 1957 a - The relation of skin to defect regulation in regenerating half limbs. J. Morph., 100, 547-563.
- GOSS R.J., 1957 b - The effect of partial irradiation on the morphogenesis of limb regenerates. J. Morph., 101, 131-148.
- GOSS R.J., 1961 - Regeneration of Vertebrate appendages. in Adv. Morph. 1. M. Abercrombie et J. Brachet éds. Acad. Press, New York et Londres, p. 103-152.
- GUYENOT E., DINICHERT-FAVARGER J. et GALLAND M., 1948 - L'exploration du territoire de la patte antérieure du Triton. Rev. Suisse Zool., 55, 1-120.
- GUYENOT E. et SCHOTTE O., 1926 - Le rôle du système nerveux dans l'édification des régénérats de pattes chez les Urodèles. C. r. Soc. Phys. Hist. Nat. Genève, 48, 32-36.

## H

- HAMBURGER V. et HAMILTON H.L., 1951 - A series of normal stages in the development of the chick embryo. J. Morph., 88, 49-92.
- HAMPE A., 1959 - Contribution à l'étude du développement et de la régulation des déficiences et des excédents dans la patte de l'embryon de poulet. Arch. Anat. Micr. Morph. exp., 48, 345-378.
- HARRISON R.G., 1917 - Transplantation of limbs. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 3, 245-251.
- HARRISON R.G., 1921 - On relations of symmetry in transplanted limbs. J. exp. Zool. 32, 1-136.
- HAY E.D., 1952 - The role of epithelium in Amphibian limb regeneration, studied by haploïd and triploïd transplants. Am. J. Anat., 91, 447-481.

- HAY E.D., 1958 - The fine structure of blastema cells and differentiating cartilage cells in regenerating limbs of *Amblystoma* larvae. J. Biophys. Biochem. Cytol., 4, 583-592.
- HAY E.D., 1959 - Electron microscopic observations of muscle dedifferentiation in regenerating *Amblystoma* limbs. Develop. Biol., 1, 555-585.
- HAY E.D., 1962 - Cytological studies of dedifferentiation and differentiation in regenerating amphibian limbs. *in* Regeneration, D. Rudnick ed., Ronald Press, N.Y., p. 177-210.
- HAY E.D. et FISCHMAN D.A., 1961 - Origin of the blastema in regenerating limb of the newt *Triturus viridescens*. An autoradiographic study using tritiated thymidine to follow cell proliferation and migration. Develop. Biol., 3, 26-59.

## I

- ITEN L.E. et BRYANT S.V., 1975 - The interaction between the blastema and stump in the establishment of the anterior-posterior and proximal-distal organization of the limb regenerate. Develop. Biol., 44, 119-147.

## J

- JEANNY J.C. et GONTCHAROFF M., 1974 - Synthèse d'ADN au cours des phases précoces de la régénération des membres postérieurs de *Desmognathus fuscus*. C. R. Acad. Sc., 278, 1513-1516.
- JUGE J., 1940 - Les potentialités morphogénétiques des segments du membre dans la régénération du triton (Autopode). Rev. suisse Zool., 47, 65-133.

## K

- KELLY D.J. et TASSAVA R.A., 1973 - Cell division and ribonucleic acid synthesis during the initiation of limb regeneration in larval Axolotls (*Ambystoma mexicanum*). J. exp. Zool., 185, 45-54.
- KIENY M., 1964 a - Régulation des excédents et des déficiences du bourgeon d'aile de l'embryon de poulet. Arch. Anat. Micr. Morph. exp., 53, 29-44.
- KIENY M., 1964 b - Etude du mécanisme de la régulation dans le développement du bourgeon de membre de l'embryon de poulet. I. Regulation des excédents. Develop. Biol., 9, 197-229.
- KIENY M., 1964 c - Etude du mécanisme de la régulation dans le développement du bourgeon de membre de l'embryon de poulet. II. Régulation des déficiences dans les chimères "aile-patte" et "patte-aile". J. Embryol. exp. Morph., 12, 357-371.
- KIENY M. et PAUTOU M.P., 1976 - Régulation des excédents dans le développement du bourgeon de membre de l'embryon d'oiseau. Analyse expérimentale des combinaisons xénoplastiques caille/poulet. Wilhelm Roux' Arch., 179, 327-338.
- KIENY M. et PAUTOU M.P., 1977 - Proximo-distal pattern regulation in deficient avian limb buds. Wilhelm Roux' Arch., 183, 177-191.

## L

- LAGAN M., 1961 - Regeneration from implanted dissociated cells. II. Regenerates produced by dissociated cells derived from different organs. Folia biol., 9, 3-26.
- LAUFER H., 1959 - Immunochemical studies of muscle proteins in mature and regenerating limbs of the adult newt *Triturus viridescens*. J. Embryol. exp. Morph., 7, 431-458.
- LAWRENCE P., 1974 - Cell movement during pattern regulation in *Oncopeltus*. Nature, 248, 609-610.
- LAZARD L., 1959 - Influence des greffes de tissu "neutre" sur la régénération des membres chez *Amblystoma*. C. R. Acad. Sc., 249, 1819-1820.

- LAZARD L., 1967 - Restauration de la régénération des membres irradiés d'Axolotl par des greffes hétérotopiques d'origines diverses. *J. Embryol. exp. Morph.*, 18, 321-342.
- LENTZ T.L., 1969 - Cytological studies of muscle dedifferentiation and differentiation during limb regeneration of the newt *Triturus*. *Amer. J. Anat.*, 124, 447-479.
- LHEUREUX E., 1970 - Etude des schizomélies expérimentales de l'appendice locomoteur chez l'araignée *Tegenaria saeva* Bl. *C. R. Acad. Sc.*, 270, 709-711.
- LHEUREUX E., 1971 - Recherches expérimentales sur la participation du greffon et du porte-grefe dans la morphogenèse d'appendices surnuméraires chez l'araignée *Tegenaria saeva* Bl. *C. R. Acad. Sc.*, 272, 3299-3301.
- LHEUREUX E., 1972 - Contribution à l'étude du rôle de la peau et des tissus axiaux du membre dans le déclenchement de morphogenèses régénératrices anormales chez le triton *Pleurodeles waltlii* Michah. *Ann. Embr. Morph.*, 5, 165-178.
- LHEUREUX E., 1975 a - Nouvelles données sur le rôle de la peau et des tissus internes dans la régénération du membre du triton *Pleurodeles waltlii* Michah. (Amphibien Urodèle). *Wilhelm Roux' Arch.*, 176, 285-301.
- LHEUREUX E., 1975 b - Régénération des membres irradiés de *Pleurodeles waltlii* Michah. (Urodèle). Influence des qualités et orientations des greffons non irradiés. *Wilhelm Roux' Arch.*, 176, 303-327.
- LHEUREUX E., 1976 - Rôles du derme et de l'épiderme dans la régénération du membre du triton *Pleurodeles waltlii*. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 101 (suppl. 3), 109-118.
- LHEUREUX E., 1977 - Importance des associations de tissus du membre dans le développement des membres surnuméraires induits par déviation de nerf chez le triton *Pleurodeles waltlii* Michah., *J. Embryol. exp. Morph.*, 38, 151-173.
- LIOSNER L.D., 1939 - (En russe) Sur le rôle du squelette générateur de nouvelles formes au cours de la régénération. *Bull. Biol. Méd. exp. URSS*, 8, 17-20.

- LIOSNER L.D., 1947 - (En russe) Sur la question de la restauration de l'aptitude à régénérer des membres irradiés d'Axolotl. Dokl. Akad. Nauk. SSSR, 57, 633-635.
- LOCATELLI P., 1925 - Formation de membres surnuméraires. C. r. Assoc. Anat. 20e Réunion Turin, 279-282.
- LODYZENSKAJA V., 1930 - La transplantation des bourgeons de régénération des extrémités de l'axolotl. Trav. Lab. Zool. exp. Morphol. anim., 1, 61-120.
- LUTHER W., 1948 - Zur Frage des Determinationszustandes von Regenerationsblastemen. Naturwissenschaften, 35, 30-31.

## M

- MAC CABE A.B., GASSELING M.T. et SAUNDERS J.W. Jr, 1973 - Spatiotemporal distribution of mechanisms that control outgrowth and antero-posterior polarization of the limb bud in the chick embryo. Mech. Ageing Develop., 2, 1-12.
- MAC CABE J.A., ERRICK J. et SAUNDERS J.W. Jr, 1974 - Ectodermal control of the dorso-ventral axis in the leg bud of the chick embryo. Develop. Biol., 39, 69-82.
- MAC CABE J.A. et PARKER B.W., 1975 - The *in vitro* maintenance of the apical ectoderm ridge of the chick embryo wing bud : An assay for polarizing activity. Develop. Biol., 45, 349-357.
- MAC CABE J.A. et PARKER B.W., 1976 - Polarizing activity in the developing limb of the syrian hamster. J. exp. Zool., 195, 311-317.
- MADEN M. et WALLACE H., 1976 - How X-rays inhibit Amphibian limb regeneration. J. exp. Zool., 197, 105-114.
- MENDELSON M.L., 1958 - The two-wavelength method of microspectrophotometry. II. A set of tables to facilitate the calculations. J. Biophysic. and Biochem. Cytol., 4, 415-424.
- METTETAL C., 1939 - La régénération des membres chez la salamandre et le triton. Arch. Anat. Hist. Embr., 28, 1-124.
- MICHAEL M.I. et FABER J., 1971 - Morphogenesis of mesenchyme from regeneration blastemas in the absence of digit formation in *Ambystoma mexicanum*. Wilhelm Roux' Arch., 168, 174-180.

MILOJEVIC B.D., 1924 - Beiträge zur Frage über die Determination der Regenerate. Wilhelm Roux' Arch., 103, 80-94.

MONROY A., 1944 - Ulteriori ricerche sulla rigenerazione degli arti degli Anfibi Urodeli. Atti R. Accad. Sci., Lett. Billi Arti Palermo, 4, 19-43.

## N

NAMENWIRTH M., 1974 - The inheritance of cell differentiation during limb regeneration in the axolotl. Develop. Biol., 41, 42-56.

NOULIN G., 1971 - Etude de la production de formations surnuméraires simples par greffe d'hypoderme et de la régénération de formations surnuméraires doubles chez *Porcellio dilatatus* Brandt. C. R. Acad. Sc., 272, 3195-3198.

NUBLER-YUNG K., 1974 - Cell migration during pattern reconstitution in the insect segment (*Dysdercus intermedius*, Heteroptera). Nature, 248, 610-611.

## O

OBERHEIM K.W. et LUTHER W., 1958 - Versuche über die Extramitäten Regeneration von Salamanderlarven bei umgekehrter Polarität des Amputationsstumpfes. Wilhelm Roux'Arch., 150, 373-382.

OBERPRILLER J., 1968 - The action of X-irradiation on the regeneration fields of the forelimb of the adult newt *Diemictylus viridescens*. J. exp. Zool., 168, 403-422.

OVERTON J., 1950 - Mitotic stimulation of amphibian epidermis by underlying grafts of central nervous tissue. J. exp. Zool., 115, 521-559.

## P

- PATAU K., 1952 - Absorption microphotometry of irregular shaped objects. *Chromosoma*, 5, 341-362.
- PATRICK J. et BRIGGS R., 1964 - Fate of cartilage cells in limb regeneration in the axolotl (*Ambystoma mexicanum*). *Experientia*, 20, 431-432.
- PAUTOU M.P. et KIENY M., 1973 - Interaction ecto-mésodermique dans l'établissement de la polarité dorso-ventrale du pied de l'embryon de poulet. *C. R. Acad. Sc.*, 277, 1225-1228.
- PIETSCH P., 1961 - Differentiation in regeneration. I. The development of muscle and cartilage following deplantation of regenerating limb blastemata of *Amblystoma* larvae. *Develop. Biol.*, 3, 255-264.
- POLEZAJEW L.V., 1959 - Recovery of limb regeneration in axolotls after X-ray irradiation. *Transl. Dokl. Akad. Nauk. SSSR*, 127, 713-716.
- POLEZAJEW L.V. et ERMAKOVA N.I., 1960 - Restoration of regeneration capacity of the extremities in Axolotls depressed by Roentgen radiation. *Transl. Dokl. Akad. Nauk. SSSR*, 131, 209-212.
- POLEZAJEW L.V. et FAWORINA W.N., 1935 - Über die Rolle des Epithels in den Anfänglichen Entwicklungsstadien einer Regenerationsanlage der Extremität beim Axolotl. *Wilhelm Roux' Arch.*, 133, 701-727.
- POLEZAJEW L.V., TEPLITS N.A. et TUCHKOVA S.Ya., 1963 - Factors governing recovery of the ability of Axolotls to regenerate limbs after its suppression by X-rays. *Transl. Dokl. Akad. Nauk. SSSR*, 150, 694-697.
- PRZIBRAM M., 1921 - Die Bruchdreifachbildung im Tierreiche. *Wilhelm Roux' Arch.*, 48, 205-244.

## R

- RAHMANI T., 1960 - Conflit de potentialités morphogènes et duplication. *Rev. suisse Zool.*, 67, 589-675.

- RAHMANI T. et KIORTSIS V., 1961 - Le rôle de la peau et des tissus profonds dans la régénération de la patte. Rev. suisse Zool., 68, 91-102.
- RIDDIFORD L.M., 1960 - Autoradiographic studies of tritiated thymidine infused into the blastema of the early regenerate in the adult newt, *Triturus*. J. exp. Zool., 144, 25-32.
- ROGUSKI H., 1961 - Regeneration from implanted dissociated cells. III. Regenerative capacity of blastemal cells. Folia Biol., 9, 269-302.
- ROSE F.C., QUASTLER H. et ROSE S.M., 1955 - Regeneration of X-rayed Salamander limbs provided with normal epidermis. Science, 122, 1018-1019.
- ROSE F.C. et ROSE S.M., 1965 - The role of normal epidermis in recovery of regenerative ability in X-rayed limbs of *Triturus*. Growth, 29, 361-393.
- ROSE S.M., 1948 - Epidermal dedifferentiation during blastema formation in regenerating limbs of *Triturus viridescens*. J. exp. Zool., 108; 337-359.
- ROSE S.M., 1962 - Tissue arc control of regeneration in the Amphibian limb. *in* Regeneration. D. Rudnick éd., Ronald Press N.Y., p. 153-176.
- ROSE S.M., 1964 - Regeneration. *in* "Physiology of the Amphibia". J.A. Moore Ed. Acad. Press, New York, p. 545-622.
- ROSE S.M., 1970 - Regeneration : Key to understanding normal and abnormal growth and development. Appleton Century Crofts N.Y.
- RUBEN L.N. et FROTHINGHAM M.L., 1958 - The importance of innervation and superficial wounding in Urodele accessory limb formation. J. Morph., 102, 91-117.
- RUUD G., 1926 - The symmetry relations of transplanted limbs in *Amblystoma tigrinum*. J. exp. Zool., 46, 121-142.

## S

- SALPETER M.M. et SINGER M., 1960 - The fine structure of mesenchymatous cells in the regenerating forelimb of the adult newt *Triturus*. *Develop. Biol.*, 2, 516-534.
- SAUNDERS J.W. Jr, 1948 - The proximo-distal sequence of origine of the parts of the chick wing and the role of ectoderm. *J. exp. Zool.*, 108, 363-403.
- SAUNDERS J.W. Jr et GASSELING M.T., 1968 - Ectodermal-mesenchymal interactions in the origin of limb symmetry. *in* Epithelial-mesenchymal interactions R. Fleischmajer and R.E. Billingham eds. Williams and Wilkins, Baltimore, p. 78-98.
- SAUNDERS J.W. Jr, GASSELING M.T. et GFELLER M.D., 1958 - Interactions of ectoderm and mesoderm in the origin of axial relationship in the wing of the fowl. *J. exp. Zool.*, 137, 39-74.
- SCHILT J., 1970 - Induction expérimentale d'excroissances par des greffes hétéropolaires chez la planaire *Dugesia lugubris* O. Schmidt. *Ann. Embr. Morph.*, 3, 93-106.
- SCHWIDEFSKY G., 1935 - Entwicklung und Determination der Extramitäten Regenerate bei den Molchen. *Wilhelm Roux' Arch.*, 132, 57-114.
- SETTLES H.E., 1967 - Supernumerary regeneration caused by ninety degree skin rotation in the adult newt *Triturus viridescens*. Ph. D. Thesis, Tulane University.
- SHAW V.K. et BRYANT P.J., 1975 - Supernumerary regeneration in the large milk-week bug *Oncopeltus fasciatus*. *Develop. Biol.*, 45, 221-230.
- SHURALEFF N.C. et THORNTON C.S., 1967 - An analysis of distal dominance in the regenerating limb of the axolotl. *Experientia*, 23, 747-752.
- SIDOROVA V.F., 1949 - The regeneration of radiografted limb after transplanting unradiografted skin. *Transl. Dokl. Akad. Nauk. SSSR*, 68, 973-975.
- SIDOROVA V.F., 1951 - (En russe) Régénération d'extrémités irradiées d'axolotl en présence d'un transplant de tissu non spécifique. *Dokl. Akad. Nauk. SSSR*, 81, 297-299.
- SINGER M., 1974 - Neurotrophic control of limb regeneration in the newt. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 228, 308-322.

- SKOWRON S. et ROGUSKI H., 1958 - Regeneration from implanted dissociated cells. I. Regenerative potentialities of limb- and tail cells. *Folia Biol.*, 6, 163-173.
- SLACK J.M.W., 1977 - Control of anteroposterior pattern in the axolotl forelimb by a smoothly graded signal. *J. Embryol. exp. Morph.*, 39, 169-182.
- STEEN T.G., 1968 - Stability of chondrocyte differentiation and contribution of muscle to cartilage during limb regeneration in the axolotl (*Siredon mexicanum*) *J. exp. Zool.*, 167, 49-78.
- STINSON B.D., 1964 a - The response of X-irradiated limbs of adult Urodeles to normal tissue grafts. II. Effects of autografts of anterior or posterior halves of sixty day forearm regenerates. *J. exp. Zool.*, 155, 1-24.
- STINSON B.D., 1964 b - The response of X-irradiated limbs of adult Urodeles to normal tissue grafts. IV. Comparative effects of autografts and homografts of complete forearm regenerates. *J. exp. Zool.*, 157, 159-178.
- STOCUM D.L., 1968 - The Urodele limb regeneration blastema. A self-organizing system. II. Morphogenesis and differentiation of autografted whole and fractional blastema. *Develop. Biol.*, 18, 457-480.
- STOCUM D.L., 1975 - Regulation after proximal or distal transposition of limb regeneration blastemas and determination of the proximal boundary of the regenerate. *Develop. Biol.*, 45, 112-136.
- STOCUM D.L. et DEARLOVE G.E., 1972 - Epidermal mesodermal interaction during morphogenesis of the limb regeneration blastema in larval Salamanders. *J. exp. Zool.*, 181, 49-62.
- STOCUM D.L. et MELTON D.A., 1977 - Self-organizational capacity of distally transplanted limb regeneration blastemas in larval salamanders. *J. exp. Zool.*, 201, 451-462.
- STULTZ W.A., 1936 - Relations of symmetry in the hindlimb of *Amblystoma punctatum*. *J. exp. Zool.*, 72, 317-367.
- SUMMERBELL D., 1974 - Interaction between the proximal-distal and anteroposterior coordinates of positional value during the specification of positional information in the early development of the chick limb bud. *J. Embryol. exp. Morph.*, 32, 227-237.

- SUMMERBELL D., 1977 - Regulation of deficiencies along the proximal distal axis of the chick wing bud : a quantitative analysis. J. Embryol. exp. Morph., 41, 137-159.
- SUMMERBELL D. et LEWIS J.H., 1975 - Time, place and positionnal value in the chick limb bud. J. Embryol. exp. Morph., 33, 621-643.
- SUMMERBELL D., LEWIS J.H. et WOLPERT L., 1973 - Positional information in chick limb morphogenesis. Nature, 244, 492-496.
- SWEET F.H., 1926 - On the production of double limbs in amphibians. J. exp. Zool., 44, 419-473.
- SWEET F.H., 1930 - The permanence of limb-axis polarity. J. exp. Zool., 55, 87-99.

## T

- TANK P.W., 1977 - The timing of morphogenetic events in the regenerating forelimb of the axolotl, *Ambystoma mexicanum*. Develop. Biol., 57, 15-32.
- TANK P.W., 1978 - The occurrence of supernumerary limbs following blastemal transplantation in the regenerating forelimb of the Axolotl, *Ambystoma mexicanum*. Develop. Biol., 62, 143-161.
- TASSAVA R.A., BENNETT L.O. et ZITNIK G.D., 1975 - DNA synthesis without mitosis in amputated denervated forelimbs of larval axolotls. J. exp. Zool., 190, 111-116.
- TASSAVA R.A. et LOYD R.M., 1977 - Injury requirement for initiation of regeneration of newt limbs which have whole skin grafts. Nature, 268, 49-50.
- TASSAVA R.A. et MESCHER A.L., 1975 - The roles of injury, nerves, and the wound epidermis during the initiation of amphibian limb regeneration. Differentiation, 4, 23-24.
- TAUBE E., 1921 - Regeneration mit Beteiligung ortsfremder Haut bei Tritonen. Experimentelle Untersuchungen mit Unterstützung durch die Wetterhansche Stiftung in Freiburg und die Freiburger wissenschaftliche Gesellschaft. Wilhelm Roux' Arch., 49, 269-315.
- THORNTON C.S., 1938 - The histogenesis of the regenerating forelimb of larval *Amblystoma* after exarticulation of the humerus. J. Morph., 62, 219-241.

- THORNTON C.S., 1942 - Studies on the origin of the regeneration blastema in *Triturus viridescens*. J. exp. Zool., 89, 375-389.
- THORNTON C.S., 1953 - Histological modifications in denervated injured forelimbs of *Amblystoma* larvae. J. exp. Zool., 122, 119-151.
- THORNTON C.S., 1957 - The effect of apical cap removal on limb regeneration in *Amblystoma larvae*. J. exp. Zool., 134, 357-382.
- THORNTON C.S., 1962 - Influence of head skin on limb regeneration in Urodele Amphibians. J. exp. Zool., 150, 5-15.
- THORNTON C.S., 1965 - Influence of the wound skin on blastemal cell aggregation. in Regeneration in Animals and related problems. V. Kiortsis and H.A.L. Trampusch eds. North Holland Publ. Co. Amsterdam, p. 333-340.
- THORNTON C.S., 1968 - Amphibian limb regeneration. Avd. Morph., 7, M. Abercrombie, J. Brachet et T. King eds, Acad. Press New York, p. 205-249.
- TICKLE C., SUMMERBELL D. et WOLPERT L., 1975 - Positional signalling and specification of digits in chick limb morphogenesis. Nature, 254, 199-202.
- TRAMPUSCH H.A.L., 1951 - Regeneration inhibited by X-rays and its recovery. Proc. kon. ned. Akad. Wet., 54, 373-385.
- TRAMPUSCH H.A.L., 1958 - The action of X-rays on the morphogenetic fields. I. Heterotopic grafts on irradiated limbs. Proc. kon. ned. Akad. Wet., 61, 417-430.
- TRAMPUSCH H.A.L., 1963 - The morphogenetic field during regeneration. Arch. néerl. Zool., 15, 361-363.
- TRAMPUSCH H.A.L. et HARREBOME E. A.E., 1969 - Dedifferentiation and the interconvertibility of the different cell types in the Amphibian extremity. Acta Embryol. exp., 1, 35-69.
- TSCHUMI P.A., 1957 - The growth of the hindlimb bud of *Xenopus laevis* and its dependance upon the epidermis. J. Anat. 91, 149-173.
- TUCHKOVA S.Ya., 1966 - Role of trauma in restoration of the regenerating power of the limbs in Axolotls irradiated with X-rays. Transl. Dokl. Akad. Nauk. SSSR, 168, 473-476.

## U

- UMANSKI E., 1937 - (En russe) Recherches sur la régénération des Amphibiens après inactivation des tissus hôtes par l'irradiation X. *Biol. Zhur.*, 6, 739-758 (Cité par GOSS, 1961).
- UMANSKI E., 1938 - (En russe) Recherches des potentialités régénératrices de la peau de l'*Axolotl*. *Bull. Biol. Méd. exp. URSS*, 6, 142-149.
- UMANSKI E., 1939 - Interaction of inner tissues with the regeneration material during regeneration of X-rayed *Axolotls* limbs. *Bull. Biol. Méd. exp. URSS*, 8, 115-119.
- UMANSKI E., 1946 - Regenerative potencies of the skin of limb and tail in *Amblystoma*. *Transl. Dokl. Akad. Nauk. SSSR*, 51, 475-476.
- UMANSKI E. et BASINA U.A., 1948 - (En russe). Possibilité de restauration de la capacité de régénération totale des tissus d'*Axolotl* après irradiation X. *Dokl. Akad. Nauk. SSSR*, 60, 725-727.
- UMANSKI E. et KUDOKOTSEV V.P., 1949 - (En russe) Sur les particularités régionales de l'épithélium de la peau dans la régénération du membre d'*Axolotl*. *Dokl. Akad. Nauk. SSSR*, 69, 265-268.
- UMANSKI E., TKATSCH U.K. et KUDOKOTSEV V.P., 1951 - (En russe) Anisotropie diélectrique de l'épiderme de l'*Axolotl*. *Dokl. Akad. Nauk. SSSR*, 76, 465-467.

## W

- WALLACE B.M. et WALLACE H., 1973 - Participation of grafted nerves in Amphibian limb regeneration. *J. Embryol. exp. Morph.*, 29, 559-570.
- WALLACE H., MADEN M. et WALLACE B.M., 1974 - Participation of cartilage grafts in Amphibian limb regeneration. *J. Embryol. exp. Morph.*, 32, 391-404.
- WALLACE H., WESSELS S. et COHN H., 1971 - Radioresistance of nerves in Amphibian limb regeneration. *Wilhelm Roux'Arch.* 166, 219-225.
- WEISS P., 1925 - Unabhängigkeit der Extremitätenregeneration vom Skelet bei *Triton cristatus*. *Wilhelm Roux' Arch.*, 104, 359-394.

WIEDERSHEIM R., 1880 - Das Skelet von *Pleurodeles waltlii*. Jen. Z. Nat. Leipzig, 14, 25-38.

WOLPERT L., 1969 - Position information and the spatial pattern of cellular differentiation. J. Theor. Biol., 25, 1-47.

WOLPERT L., 1971 - Positional information and pattern formation. Curr. Topics Develop. Biol., 6, A. Moscona et A. Monroy eds. Acad. Press, New York, London, p. 183-224.

WORONTSOVA M.A., 1937 - Die Regenerationspotenzen der Muskulatur verschiedener Extremitätensegmente beim Axolotl. Bull. Biol. Méd. exp. URSS, 45, 156.

## Z

ZWILLING E. et HANSBOROUGH L., 1956 - Interaction between limb bud ectoderm and mesoderm in the chick embryo. III. Experiments with polydactylous limbs. J. exp. Zool., 132, 219-239.



## P L A N C H E I

### FORMATIONS SURNUMÉRAIRES OBTENUES APRES GREFFE DE BLASTEMES DE REGENERATION SUR LE MOIGNON D'AMPUTATION DU MEMBRE

a, b, c - Membres à formations surnuméraires résultant des expériences de la série 1 où les axes  $a-p$  du moignon et du greffon sont opposés.

- a - Membre gauche en vue dorsale présentant une main axiale terminale dérivée du blastème greffé, et deux mains surnuméraires  $a$  et  $p$ . Ces mains surnuméraires sont des images en miroir de la main axiale. Les trois mains ont la même orientation  $d-v$ .
- b - Squelette d'un membre droit en vue dorsale où trois mains peuvent être distinguées. On reconnaît la main axiale située entre les deux mains surnuméraires. Les relations de symétrie sont les mêmes que celles de la figure a. Le zeugopode est composé de trois éléments.
- c - Membre gauche en vue dorsale présentant également une extrémité autopodiale triple.

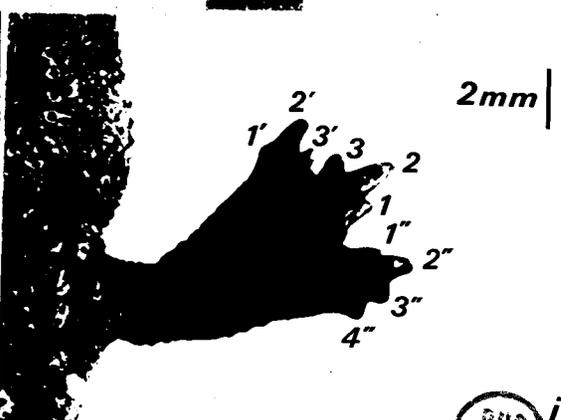
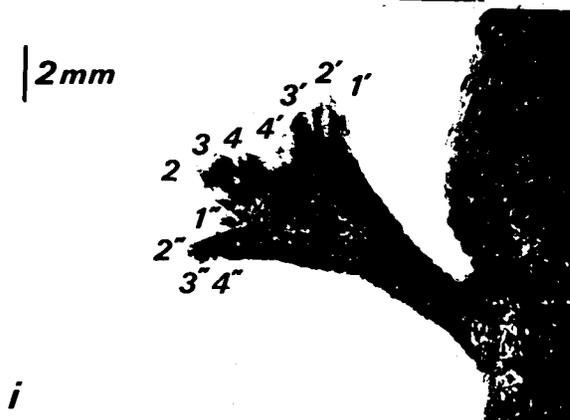
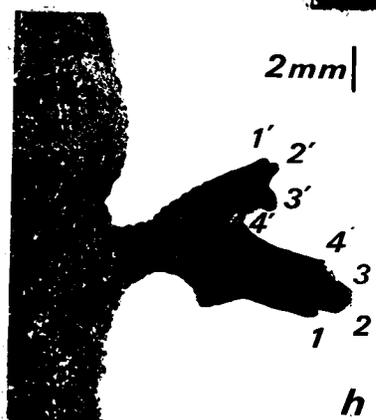
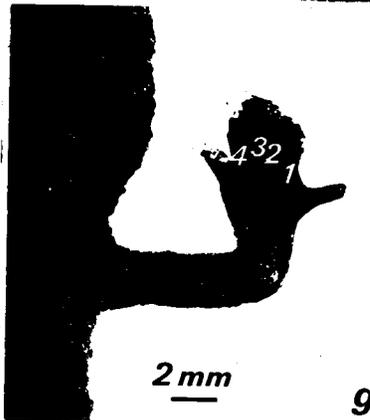
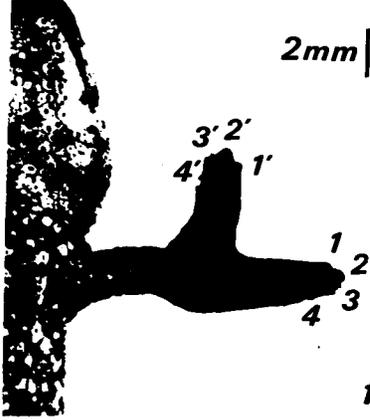
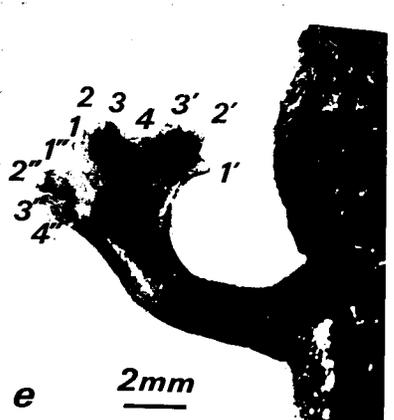
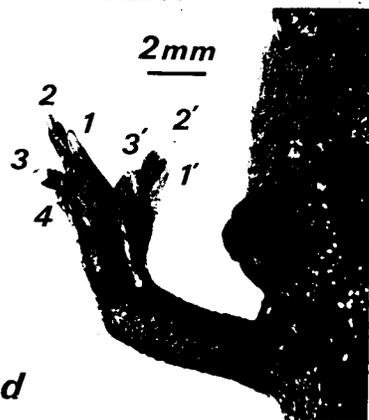
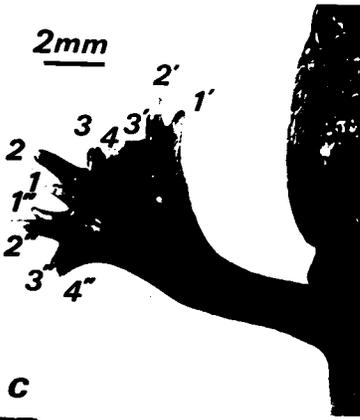
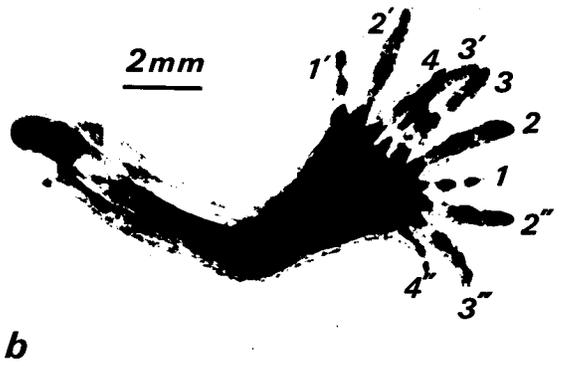
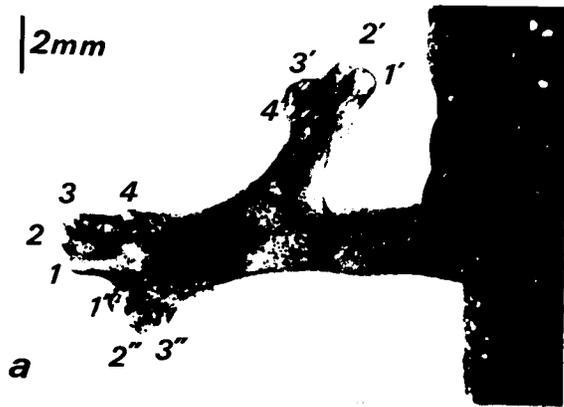
d, e - Membres à formations surnuméraires résultant des expériences de la série 2 où les axes  $d-v$  du moignon et du greffon sont opposés.

- d - Membre gauche en vue dorsale. L'autopode est double. La main développée à partir du greffon est dorsale et la main surnuméraire ventrale, l'une et l'autre sont des images en miroir l'une de l'autre, opposées par leur face dorsale.
- e - Membre gauche en vue dorsale, dont l'extrémité est triple et dont les relations de symétrie correspondent à celles de la figure c précédente.

f, g, h, i, j - Membres à formations surnuméraires résultant des expériences de la série 3 où tous les axes transverses du moignon et du blastème sont opposés.

- f - Membre gauche en vue ventrale présentant un membre surnuméraire antérieur, image en miroir du membre axial issu du développement du blastème greffé.
- g - Membre droit en vue dorsale dont l'extrémité du membre axial est dorsale. Une formation surnuméraire ventrale est formée d'un autopode de 6 doigts, dont l'axe  $a-p$  n'a pu être déterminé. Sur les bords  $a$  et  $p$  du membre, un doigt surnuméraire s'est formé.
- h - Membre gauche en vue ventrale. La main surnuméraire antérieure et le membre axial ont tous deux la latéralité d'un membre gauche et ne sont donc pas des images en miroir d'un de l'autre.
- i - Membre gauche en vue dorsale à extrémité autopodiale triple. Les trois mains sont des mains gauches et ne sont donc pas symétriques les unes des autres par rapport à un plan.
- j - Autre membre gauche, en vue ventrale, présentant les mêmes relations de symétrie que le membre représenté en i, relations non conformes aux lois de BATESON-HARRISON.

Numérotation des doigts : les doigts du membre axial sont numérotés de 1 à 4, ceux des membres surnuméraires de 1' à 4' et de 1'' à 4''.



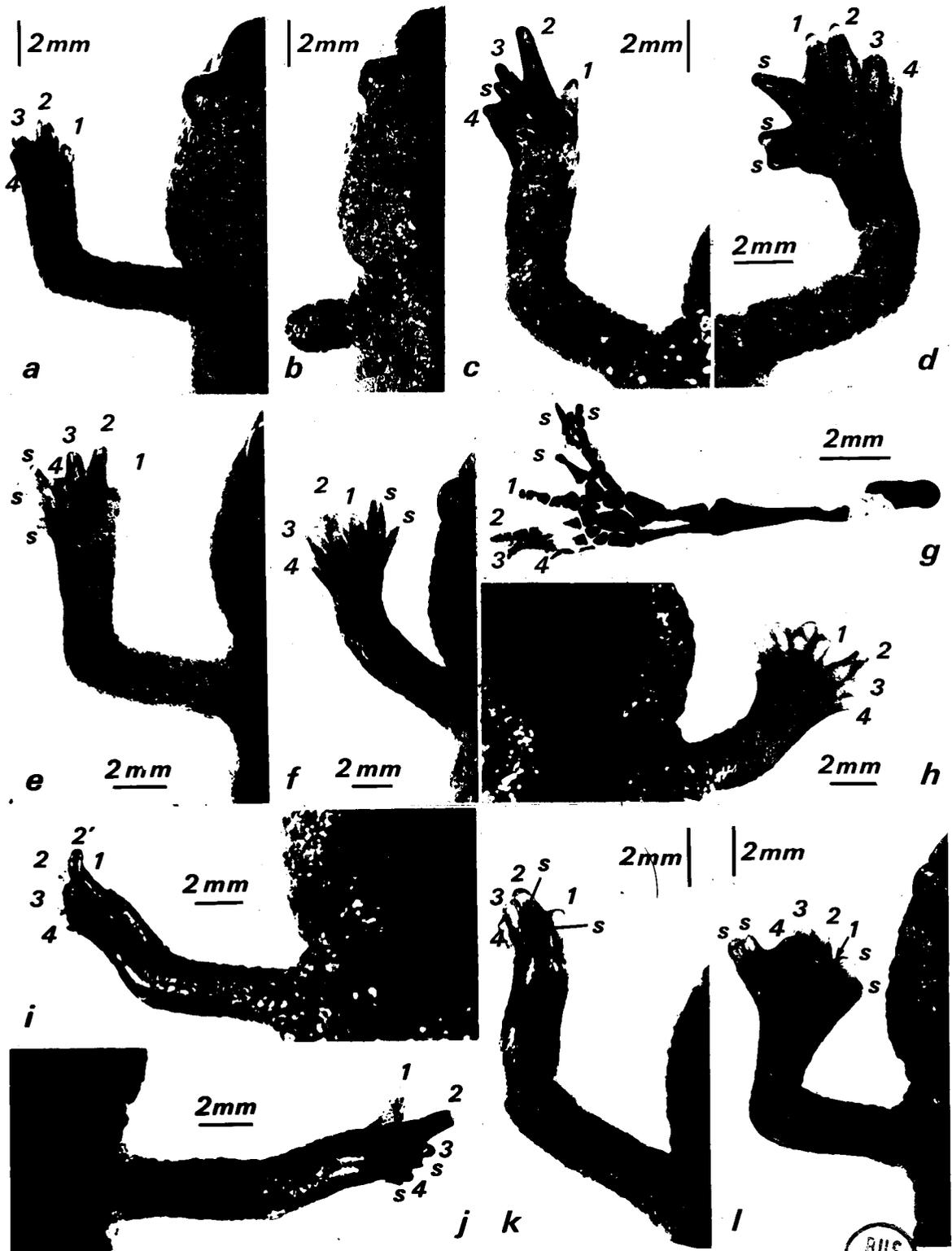


P L A N C H E II

MORPHOGENESES REGENERATRICES ANORMALES CONSECUTIVES A LA GREFFE  
DE TISSUS DE MEMBRE SUR LE MOIGNON D'UN MEMBRE NON IRRADIE

- a - Membre normal régénéré après greffe d'une bande de peau dorsale autour du moignon d'amputation (série 11).
- b - Absence de régénération à la suite de la greffe d'une bande de peau dorsale (série 11).
- c, d, e - Membres à doigts surnuméraires, résultat de la greffe de secteurs de peau d'une face sur la face opposée au niveau de l'avant-bras, suivie de l'amputation à travers le greffon.
- c - Membre droit en vue ventrale montrant deux doigts surnuméraires *s* sur la face ventrale après greffe de peau *d* à la face *v* (série 5).
- d - Membre droit en vue dorsale. Les doigts surnuméraires *s* apparaissent sur le bord *a* de la main, après greffe de peau *p* sur la face *a* (série 8).
- e - Membre gauche en vue dorsale. Les doigts surnuméraires *s* sont *p*. De la peau *a* a été greffée sur la face *p* du moignon (série 7).
- f, g - Membres à formations surnuméraires, résultat de la greffe d'une bande de peau d'une face, en manchon autour du moignon.
- f - Membre gauche en vue dorsale. La main présente sur son bord *a* deux doigts surnuméraires *s*. La bande de peau greffée a été prélevée sur la face *p*.
- g - Squelette de membre gauche régénéré après greffe de peau de qualité *p* autour du moignon d'amputation. Des doigts et quelques éléments du carpe surnuméraires *s* observent sur le bord *a* de la main.
- h, i - Membres à formations surnuméraires, résultat de la greffe de muscle *d* à la face *v* du moignon (série 9).
- h - Membre gauche en vue ventrale sur le bord *a* duquel une formation surnuméraire *s* s'est développée.
- i - Membre droit en vue ventrale. On observe des doigts surnuméraires ventraux par rapport à la main axiale.
- j, k, l - Membres surnuméraires, résultat de la greffe d'un manchon de peau sur le moignon, créant deux zones de contact entre tissus de faces opposées.
- j - Membre droit en vue dorsale, montrant deux doigts surnuméraires *s* à la face *v* de la main. Les axes *d-v* de la peau greffée et des tissus axiaux sont opposés (série 15).
- 200k  
11111 - Membre gauche en vue dorsale de la même série. La formation surnuméraire est dorsale.
- l - Membre gauche en vue dorsale de la même série. Les formations surnuméraires sont situées sur les bords *a* et *p* du membre axial.

Numérotation des doigts : les doigts du membre axial sont numérotés de 1 à 4, ceux des membres surnuméraires de 1' à 4' et de 1'' à 4''. Les doigts affectés d'un *s* ne sont pas déterminés.





P L A N C H E III

MORPHOGENESES REGENERATRICES ANORMALES CONSECUTIVES A LA GREFFE  
DE TISSUS DE MEMBRE SUR LE MOIGNON D'UN MEMBRE NON IRRADIE

- a, b, c, d, e - Membres anormaux, résultat de la greffe d'un manchon de peau sur le moignon créant deux zones de contact entre tissus de faces opposées.
- a - Membre droit en vue dorsale dont l'autopode correspond à deux mains, images en miroir l'une de l'autre, la main surnuméraire étant *a*. La peau greffée présentait une inversion de ses axes *pr-di* et *a-p* par rapport à ceux du membre porte-greffe (série 18).
- b et c - Membres gauche et droit du même animal de cette même série 18, en vue dorsale. Ils représentent deux degrés d'inhibition de développement.
- d - Membre gauche en vue ventrale présentant une inversion de son orientation *d-v* conformément à la greffe de peau *d* et *v* respectivement sur les faces *v* et *d* du moignon (série 20).
- e - Membre gauche en vue ventrale dont l'orientation *a-p* est inversée conformément à celle du manchon de peau greffé (série 18).
- f, g - Membres à formations surnuméraires, résultat de la greffe de muscles *d* et *v* créant deux zones de contact entre tissus de faces opposées (série 23).
- f - Membre gauche en vue ventrale présentant deux mains, images en miroir l'une de l'autre.
- g - Membre droit en vue dorsale. Le bord *a* du membre axial présente une double main surnuméraire pour laquelle on ne peut définir l'orientation *a-p*.
- h - Membre régénéré sur le moignon duquel a été greffé un manchon de derme créant deux zones de contact entre tissus de faces opposées.
- h - Membre gauche en vue ventrale présentant un doigt surnuméraire ventral
- i, j, k, l, m, n - Membres à formations surnuméraires résultant de la rotation de 180 degrés du manchon de peau du moignon d'amputation (série 25).
- i - Membre gauche en vue dorsale. La main surnuméraire *a* est symétrique de la main axiale par rapport à un plan.
- j - Membre droit en vue dorsale. Les deux mains sont symétriques par rapport à un plan *a-p* et s'opposent par leurs faces *d*.
- k - Membre gauche en vue ventrale. Les deux mains sont symétriques et s'opposent par leurs faces *v*.
- l - Membre droit en vue dorsale, présentant trois mains. Les deux mains à face palmaire ventrale sont des images en miroir l'une de l'autre. La main dorsale est l'image en miroir de la main ventrale antérieure.
- m, n - Membre gauche en vue ventrale (m) et en vue dorsale (n) montrant deux mains non symétriques par rapport à un plan.
- Numérotation des doigts : les doigts du membre axial sont numérotés de 1 à 4, ceux des membres surnuméraires de 1' à 4' et 1" à 4". Les doigts affectés d'un s ne sont pas déterminés.





P L A N C H E    I V

MORPHOGENESES REGENERATRICES ANORMALES CONSECUTIVES A LA GREFFE  
DE TISSUS DE MEMBRE SUR LE MOIGNON D'UN MEMBRE NON IRRADIE

- a, b, c, d, f - Membres régénérés après rotation de 180 degrés d'un manchon de peau et greffe autour du moignon (série 25).
- a, b - Membres complexes droits et gauches d'animaux en vue dorsale et en vue ventrale.
- c, d - Squelettes de membres complexes où l'on remarque respectivement quatre os zeugopodiaux (c) et 6 parties distales d'os zeugopodiaux (d).
- f - Membre gauche en vue dorsale correspondant à un membre simple dont les axes *a-p* et *d-v* sont inversés par rapport à la base du membre porte-greffe.
- e - Membre régénéré après greffe d'un manchon de derme ayant subi une rotation de 180 degrés autour de son axe *pr-di*.
- e - Membre gauche en vue dorsale. Une main surnuméraire antérieure est l'image en miroir de la main axiale.
- g, h - Membres régénérés après greffe de peau de flanc autour du moignon d'amputation (série 30).
- g - Animal en vue ventrale montrant le membre gauche normal et le membre droit avec deux doigts surnuméraires *s*. Les membres sont fortement pigmentés à l'image du manchon de peau greffé.
- h - Les deux membres opérés n'ont pas régénéré leurs parties distales amputées.

Numérotation des doigts : les doigts du membre axial sont numérotés de 1 à 4, ceux des membres surnuméraires de 1' à 4' et 1'' à 4''. Les doigts affectés d'un *s* ne sont pas déterminés.

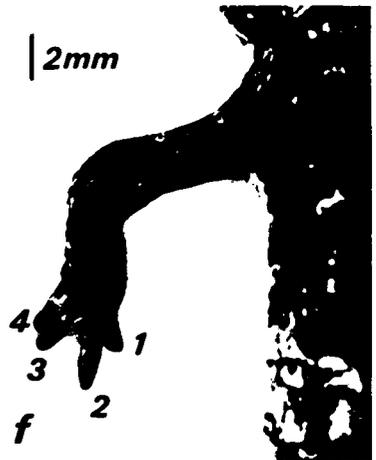


2mm



a

2mm

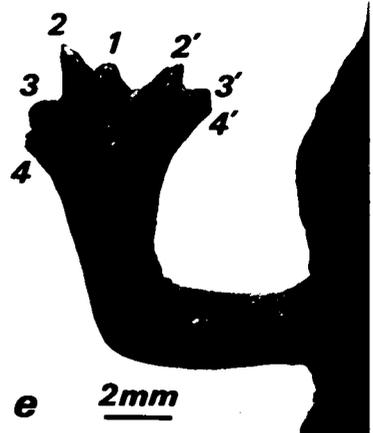


f

2mm



b



e

2mm



c

2mm



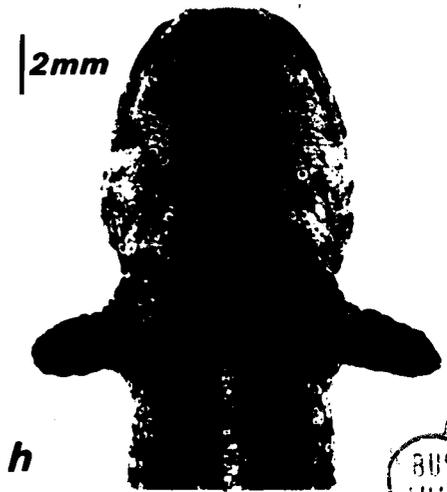
d

2mm



g

2mm



h





P L A N C H E V

NEOFORMATIONS DEVELOPPEES A L'EXTREMITE D'UN MEMBRE IRRADIE SUR  
LE MOIGNON DUQUEL DES TISSUS NON IRRADIES ONT ETE GREFFES

a, b, c, d - Néoforations développées après greffe de manchons de peau présentant les quatre qualités *d*, *v*, *a* et *p*.

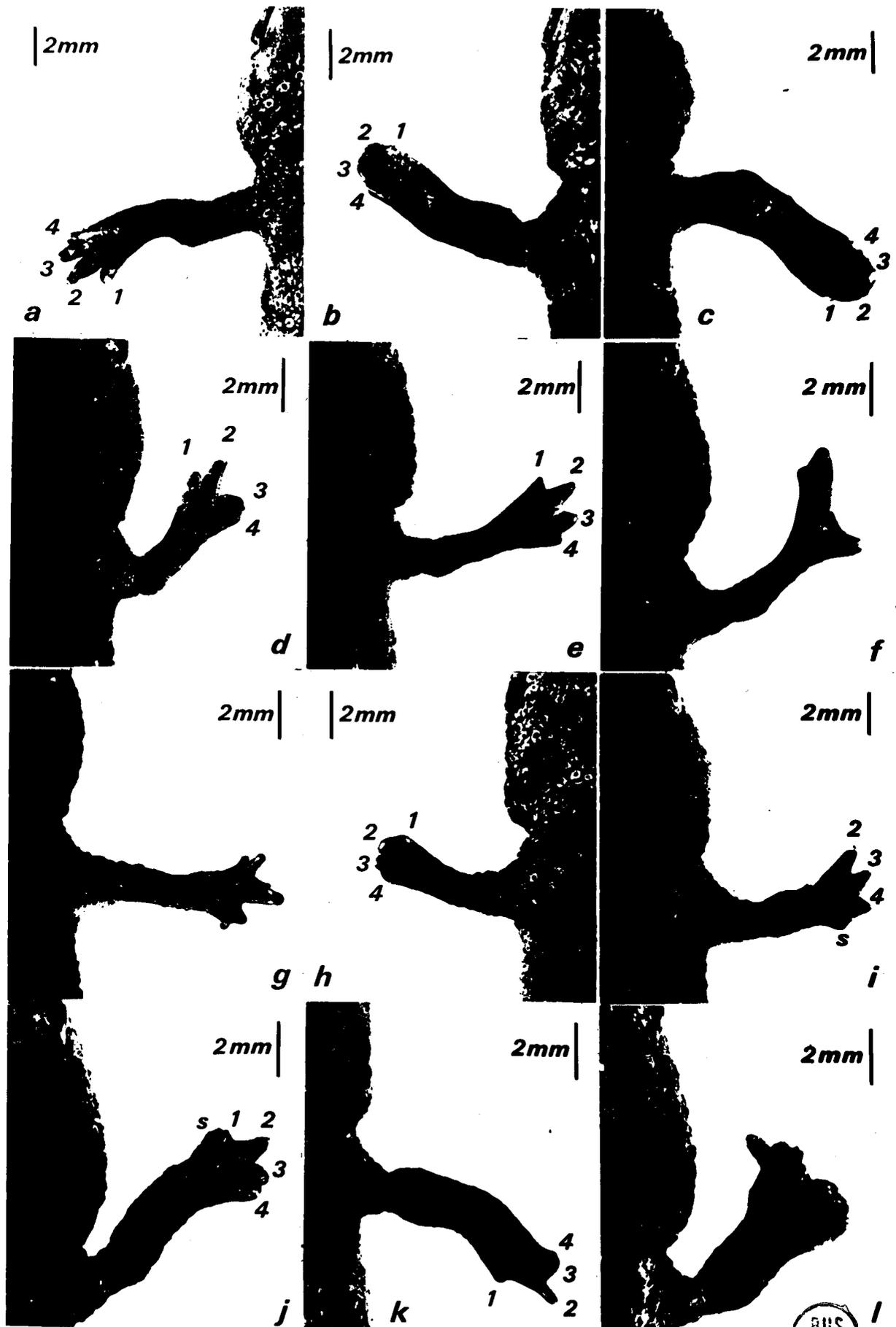
- a - Membre droit à 4 doigts en vue ventrale présentant une inversion d'orientation *a-p* et *d-v* conformément à l'orientation du manchon greffé (série 33).
- b - Membre droit à 4 doigts en vue ventrale. Seul l'axe *d-v* est inversé conformément à l'orientation du manchon greffé (série 34).
- c - Membre droit en vue dorsale dont seul l'axe *a-p* est inversé, en accord avec l'orientation du manchon greffé (série 35).
- d - Membre droit en vue dorsale, dont les axes *d-v* et *a-p* sont conformes à ceux du membre porte-greffe et à la disposition des quatre secteurs *d*, *v*, *a*, *p*, greffés après rotation de 90 degrés de l'axe *pr-di* de chacun d'eux (série 36).

e, f, g - Néoforations développées après greffe de manchons de peau présentant trois qualités.

- e - Membre droit en vue dorsale. La néoformation correspond à une extrémité normale de membre bien que la qualité *d* soit absente (série 38).
- f - Membre droit en vue dorsale. La main ne présente que trois doigts (série 38).
- g - Membre droit en vue dorsale formé après greffe de trois quarts de manchon de peau, le quart *v* étant absent (série 39). La main présente six doigts.

h, i, j, k, l - Néoforations développées après greffe de peau prélevée sur deux faces opposées.

- h - Membre droit en vue ventrale présentant sa face palmaire en accord avec la position *v* du greffon de peau *v* (série 40).
- i - Membre droit en vue dorsale de la série 40. Le doigt 1 n'est pas développé mais un doigt surnuméraire *s* postérieur est apparu (série 40).
- j - Membre droit en vue dorsale résultant d'une greffe de peau de qualités *a* et *p* (série 42). Un doigt surnuméraire *s* est visible sur le bord *a* de la main.
- k - Membre droit en vue dorsale (série 42). C'est un membre simple qui semble avoir subi une torsion de 180 degrés.
- l - Membre droit complexe de la série 42.



BUS  
LILLE

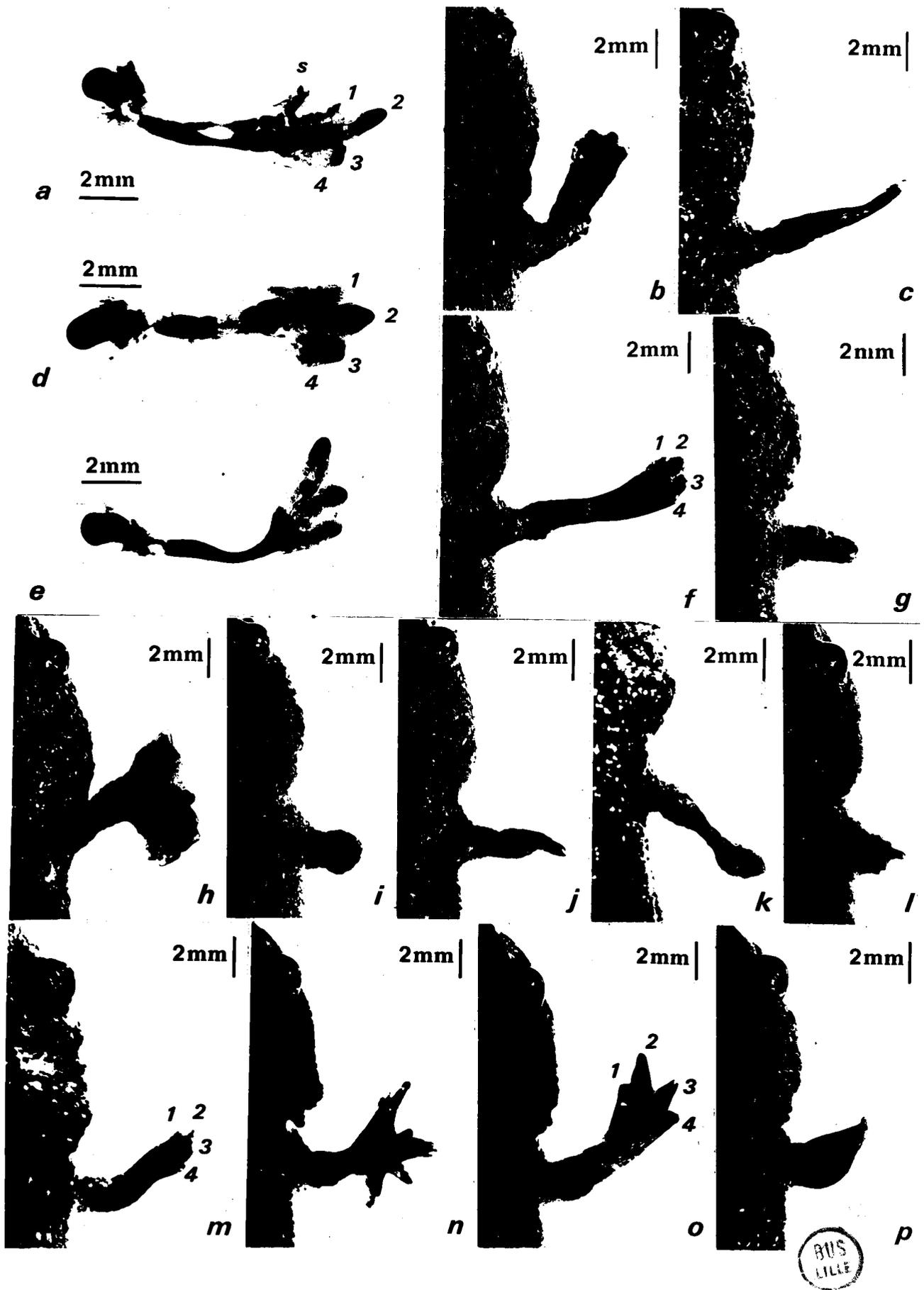


P L A N C H E VI

NEOFORMATIONS DEVELOPPEES A L'EXTREMITÉ D'UN MEMBRE IRRADIE SUR  
LE MOIGNON DUQUEL DES TISSUS NON IRRADIES ONT ETE GREFFES

- a - Squelette de membre droit correspondant à un membre normal sur le bord  $\alpha$  duquel un doigt surnuméraire est apparu (série 42).
- b à h - Néoforations formées après greffe de peau de deux qualités différentes mais non opposées. Qualités  $d$  et  $\alpha$  (série 43) : de b à e ; qualités  $d$  et  $p$  (série 44) : f ; qualités  $p + v$  (série 46) : g à h.
- b - Membre droit en vue dorsale montrant une main dont l'orientation  $\alpha-p$  n'a pas pu être déterminée.
- c - Membre droit dont l'extrémité est effilée. Vue dorsale.
- d - Squelette de membre droit dont l'orientation  $\alpha-p$  est conforme à celle du porte-greffe.
- e - Squelette de membre droit à trois doigts. Les os du carpe et le zeugopode sont soudés entre eux.
- f - Membre droit à 4 doigts dont l'orientation des axes  $\alpha-p$  et  $d-v$  est conforme à celle des axes du membre porte-greffe.
- g - Membre où aucune néoformation ne s'est développée.
- h - Membre droit présentant au autopode élargi.
- i, j, k - Néoforations obtenues après greffe de peau d'une seule qualité.
- i, j, k - Trois degrés de morphogénèse des néoforations obtenues après greffe de peau dorsale.
- l, m - Néoforations obtenues après greffe de derme et d'épiderme.
- l - Absence de morphogénèse lorsque le manchon reçoit du derme de flanc recouvert d'épiderme de membre (série 55).
- m - Membre droit dont l'orientation des axes  $\alpha-p$  et  $d-v$  est conforme à celle des axes du greffon de derme de membre, l'épiderme qui le recouvre n'affecte pas l'orientation de la néoformation.
- n, o - Néoforations obtenues après greffe de tissu musculaire de faces opposées (série 57).
- n - Membre droit présentant de nombreux doigts orientés de façon anarchique.
- o - Membre droit à main bien développée.
- p - Néoformation obtenue après greffe de muscle de flanc (série 61).
- p - Néoformation correspondant à une excroissance non structurée.





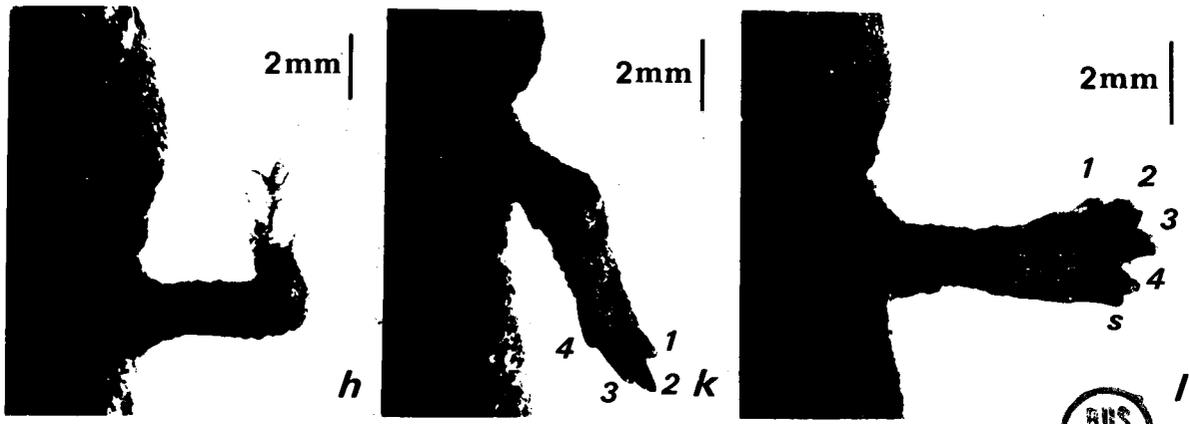
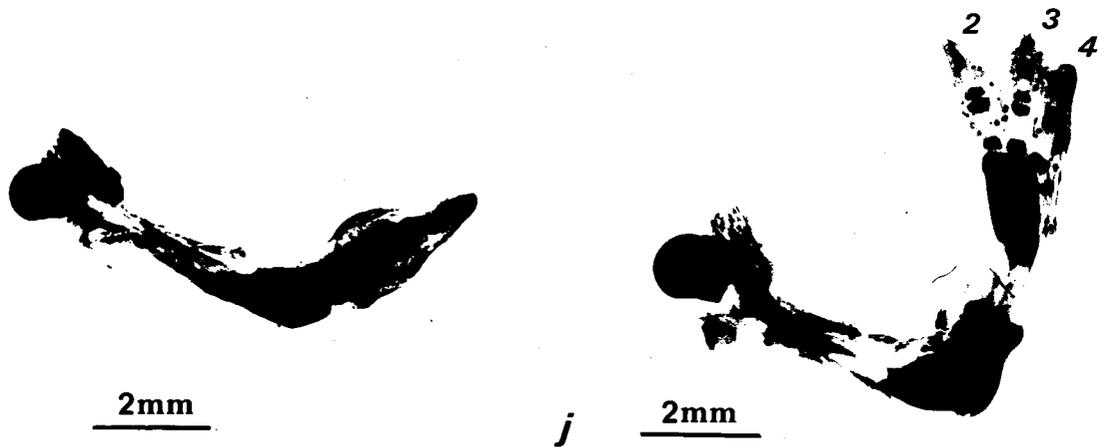
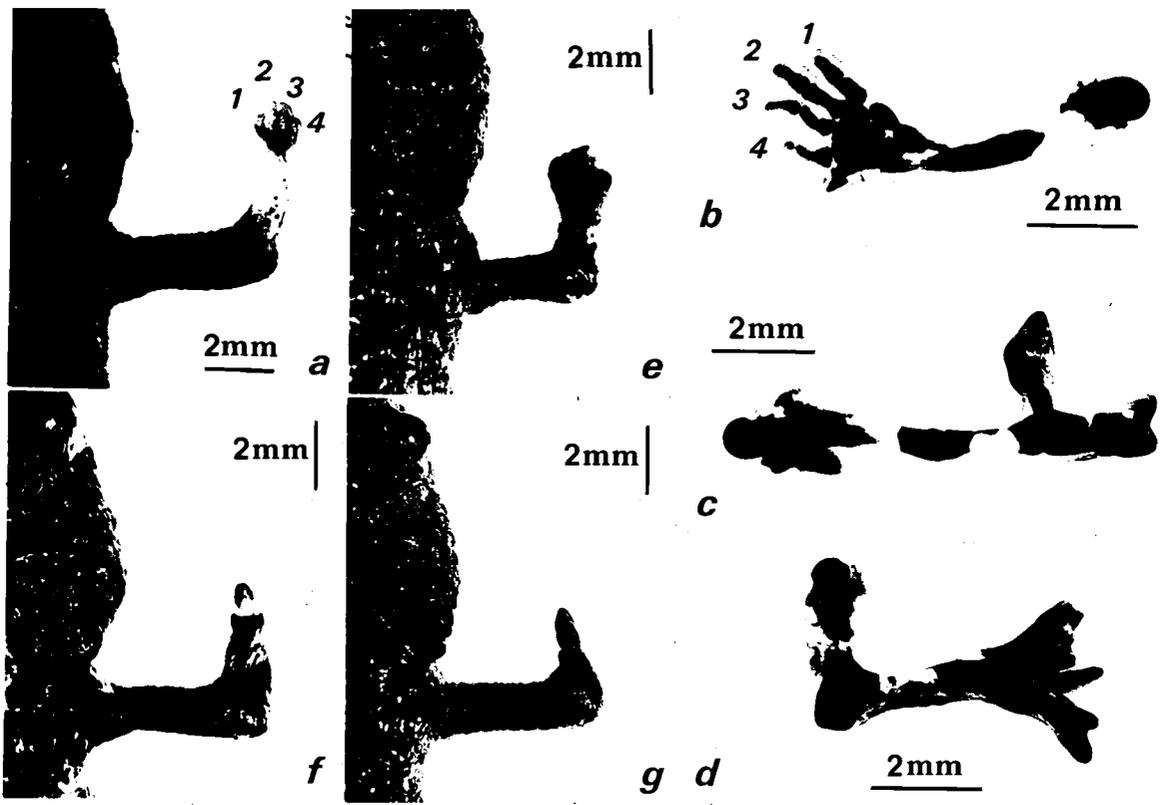


P L A N C H E VII

NEOFORMATIONS DEVELOPPEES A L'EXTREMITE D'UN MEMBRE IRRADIE SUR  
LE MOIGNON DUQUEL DES TISSUS NON IRRADIES ONT ETE GREFFES

- a à j - Néoforations obtenues après greffes de tissus squelet-  
tiques : humérus (série 62) : a à d ; radius et cubitus (série 63) :  
e et f ; radius (série 65) : g à i ; cubitus (série 64) : j.
- a - Membre droit normalement développé à la suite de la greffe d'un  
humérus non irradié.
- b - Squelette de membre droit en vue ventrale dont l'extrémité est  
celle d'un membre normal.
- c - Squelette d'un membre dont l'extrémité n'est pas structurée en  
main.
- d - Squelette de membre dont l'extrémité autopodiale, complexe, pré-  
sente 6 doigts.
- e - Membre droit présentant une néoformation dépigmentée devant cor-  
respondre à une main, mais dont le squelette n'a pas pu être  
analysé. C'est une des formations les plus développées de la  
série 63.
- f - Membre droit dont la néoformation hypomorphe correspond à la ré-  
gion distale par rapport à l'humérus.
- g - Membre droit à néoformation très réduite.
- h - Membre droit dont la néoformation dépigmentée bifurquée est l'une  
des plus développées de cette série.
- i - Squelette d'un membre dont l'extrémité néoformée se compose de  
quelques éléments cartilagineux bout à bout.
- j - Squelette de membre dont la néoformation correspond à un membre  
bien développé. Ce cas constitue une exception dans la série 64.
- k, l - Néoforations développées après greffe de muscle *d* et de  
peau *v* non irradiés.
- k - Membre droit à 4 doigts.
- l - Membre droit dont l'extrémité montre une main à 5 doigts.







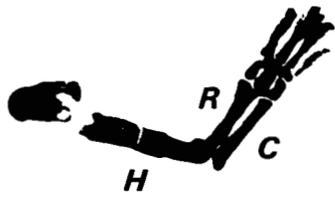
P L A N C H E VIII

REGULATION DU DEVELOPPEMENT PROXIMO-DISTAL DU MEMBRE EN REGENERATION

- a - Squelette de membre de la série témoin (série 73) où tous les éléments sont normalement développés.
- b, c, d - Membres obtenus après greffe de blastèmes d'avant-bras, sur le moignon d'un bras (série 71).
- b - Membre droit normalement développé.
- c - Squelette de membre droit montrant un humérus distal et un zeugopode développés correspondant à un régénérat intercalaire.
- d - Squelette présentant le même régénérat intercalaire et un doigt surnuméraire.
- e, f, g - Membres obtenus après greffe de blastèmes de bras sur le moignon d'un avant-bras (série 72).
- e - Membre gauche présentant un allongement anormal de l'extrémité distale.
- f - Squelette de membre gauche montrant le développement d'un stylo-pode, d'un zeugopode et d'un autopode à l'extrémité distale du zeugopode porte-greffe.
- g - Squelette de membre droit où seuls le zeugopode et l'autopode développés à partir du blastème greffé sont présents à l'extrémité du zeugopode porte-greffe.
- h, i - Membres à formations surnuméraires, résultat de greffe de blastèmes sur un moignon de niveau proximo-distal différent, les axes  $\alpha$ - $p$  du moignon et du greffon étant opposés.
- h - Membre droit de la série 74, le blastème à l'origine de la main axiale de ce triple autopode, provient du bras gauche. Il a été greffé sur l'avant-bras distal. Deux formations surnuméraires se sont développées sur les bords  $\alpha$  et  $p$  du membre axial.
- i - Membre gauche de la série 75. Le blastème a été prélevé sur l'avant-bras droit et greffé sur le bras gauche. Deux mains surnuméraires ont des positions  $\alpha$  et  $p$  par rapport au membre axial.
- j, k - Néoformations développées sur le membre droit irradié sur le moignon duquel un manchon de peau de bras ou d'avant-bras a été greffé.
- j - Néoformation obtenue après greffe d'un manchon de peau de bras sur l'avant-bras du membre irradié.
- k - Néoformation obtenue après greffe d'un manchon de peau d'avant-bras sur le bras du membre irradié.

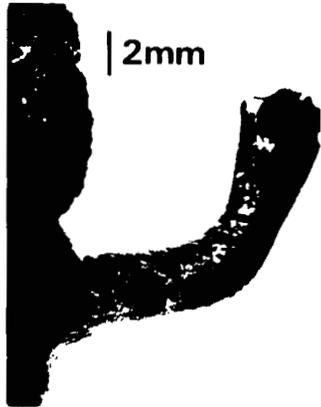


2mm



a

2mm



b c

2mm



2mm



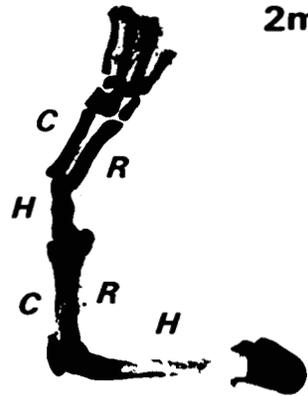
d

2mm



e

2mm



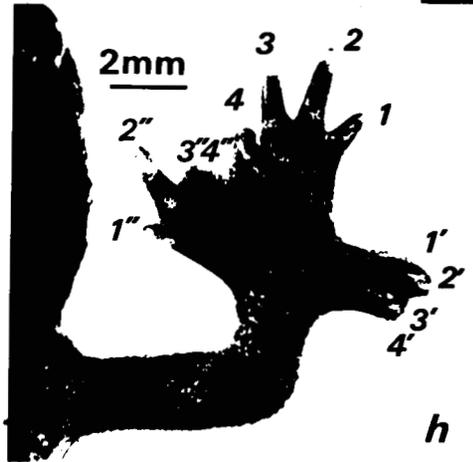
f

2mm



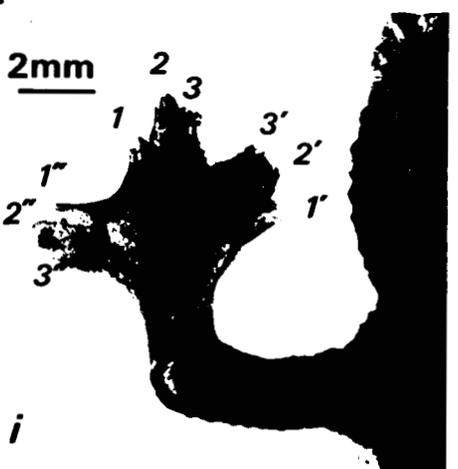
g

2mm



h i

2mm



2mm



j

2mm



k





## PLANCHE IX

### ROLE DES NERFS ET DES CONTACTS TISSULAIRES DANS LA GENÈSE DES MEMBRES SURNUMÉRAIRES

- a - Formation surnuméraire développée après greffe de secteur de peau ventrale associée à une déviation du nerf brachial sous le greffon (série 84).
- a - Le greffon de peau ventrale faiblement pigmentée est encore visible (astérisque). Le régénérat présente trois doigts surnuméraires dorsaux (flèches).
- b, c - Néoformations développées après déviation du nerf brachial à la face dorsale du bras (série 87).
- b - Une petite formation conique s'observe au point d'émergence du nerf dévié.
- c - Formation tridigitée correspondant au degré maximum de développement observé dans cette série.
- d, e - Squelette de membres porteurs de néoformations induites par déviation du nerf brachial entre deux zones de peau de qualités opposées.
- d - Membre gauche en vue dorsale de la série 91. La néoformation correspond à une main et un avant-bras distal normaux.
- e - Membre droit en vue dorsale de la série 95. La néoformation est complexe.
- f, g, h, i - Néoformations obtenues après greffe de muscle au point d'émergence du nerf dévié.
- f - Membre néoformé bien développé à la suite de la greffe de muscle ventral sur la face dorsale (série 98).
- g - Membre néoformé presque normal à la suite de la greffe de muscle dorsal sur la face ventrale (série 97).
- h - Néoformation de la série 98 présentant plus de 4 doigts.
- i - Néoformation hypomorphe apparue après la greffe de muscle ventral au point d'émergence ventral du nerf dévié (série 99).
- j, k, l, m, n - Orientations des néoformations selon l'orientation des tissus situés au voisinage du point d'émergence du nerf dévié.
- j - Néoformation de la série 93. L'orientation  $\alpha$ - $p$  est déterminée par la position des qualités  $\alpha$  et  $p$  de la peau respectivement distale et proximale par rapport au nerf dévié.
- k et l - Néoformation de la série 91 montrant sa face  $v$  en k et sa face  $d$  en l. Son orientation se superpose à celle du membre donneur.
- m - Néoformation de la série 94, correspondant à un membre simple. Son orientation  $d$ - $v$  est conforme à celle de la peau de part et d'autre du nerf dévié. L'axe  $\alpha$ - $p$  correspond à celui de la peau distale en place.
- n - Néoformation développée sur un membre irradié, entre deux manchons greffés de peau non irradiée (série 96). Son orientation dépend uniquement de celle des manchons de peau non irradiée.

